

**Untersuchungen zur intraspezifischen
olfaktorischen Kommunikation bei
männlichen Tupaia Belangeri:
Charakterisierung des
Sternaldrüsensekrets**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
des Fachbereichs Biologie
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München**

**vorgelegt von
Falko v. Stralendorff
aus Golchen**

München 1977

1978

Digitized by the Internet Archive
in 2026

**Untersuchungen zur intraspezifischen
olfaktorischen Kommunikation bei
männlichen Tupaia Belangeri:
Charakterisierung des
Sternaldrüsensekrets**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
des Fachbereichs Biologie
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Falko v. Stralendorff
aus Golchen

München 1977



1. Berichterstatter: Prof. Dr. Dr. h. c. H. Autrum

2. Berichterstatter: Prof. Dr. B. Linzen

Tag der mündlichen Prüfung: 5. 5. 1978

Meinem verehrten Lehrer Herrn Prof.Dr.H. Autrum danke ich herzlich für die Anregung der vorliegenden Arbeit sowie für seine freundliche Unterstützung.

Ebenso danke ich Herrn Prof.Dr.D.v. Holst für sein ständiges Interesse am Fortgang der Arbeit und den freundschaftlichen Beistand bei der Ausarbeitung.

Weiter danke ich Frau Dr. K.Kurtz-Fillies für die Überlassung des Arbeitsgebietes und für die Unterstützung mit Sachmitteln, die ihr die Deutsche Forschungsgemeinschaft zur Verfügung stellte.

Der Studienstiftung des Deutschen Volkes gebührt ebenfalls mein Dank für die Gewährung eines Promotionsstipendiums.

INHALTSVERZEICHNIS

A. EINLEITUNG	1
B. MATERIAL UND METHODEN	4
I. Material	4
II. Versuchstiere	6
1. Tiere für die Gewinnung des Sternal- drüsensekrets	6
2. Tiere für den biologischen Test	6
III. Untersuchungen zum biologischen Test	9
1. Messen der Markieraktivität	9
2. Biologischer Test	9
IV. Analyse des Sternaldrüsensekrets	12
1. Quantitative Sekretbestimmung	12
2. Extraktion des Rohsekrets	12
3. Orientierende Dünnschichtchromato- graphie der Lipidfraktion	13
4. Präparative Trockensäulenchromato- graphie der Lipidfraktion	14
5. Wasserdampfdestillation	15
6. Abtrennung der leichtflüchtigen Ver- bindungen aus der Lipidfraktion	17
7. Gaschromatographische Analyse	22
8. Identifizierung der isolierten Duftstoffe	24
C. ERGEBNISSE	25
I. Markieraktivität der Versuchstiere unter Kontrollbedingungen	25
1. Zeitliche Verteilung	25
2. Räumliche Verteilung	27

II. Markieraktivität der Versuchstiere unter Testbedingungen	29
III. Analyse des Sternaldrüsensekrets	32
1. Allgemeine Charakterisierung des Sekrets	32
2. Untersuchung des Rohsekrets	32
3. Orientierende Dünnschichtchromato- graphie	34
4. Präparative Trockensäulenchromato- graphie	36
5. Wasserdampfdestillation	39
6. Abtrennung der flüchtigen Verbind- ungen	40
7. Gaschromatographische Analyse	41
8. Identifizierung einzelner Duft- komponenten	42
D. DISKUSSION	48
I. Biotest	48
II. Analyse des Sternaldrüsensekrets	51
E. TABELLEN	59
F. ZUSAMMENFASSUNG	69
G. LITERATUR	71

A. EINLEITUNG

Viele Säugetiere verteilen mit auffälligem Verhalten körpereigene Duftstoffe in ihrem Lebensraum ¹. Dieses Verhalten wird als Duftmarkieren bezeichnet. Die Duftmarken sind Hautdrüsen-sekrete, die den verschiedensten Körperregionen entstammen (Schaffer, 1940). Sie können, wie Dressurversuche zeigten, durch ihren Geruch dem Artgenossen verschiedene Informationen über ihren Erzeuger liefern ². Die stoffliche Basis solcher Informationen sind Gemische chemischer Verbindungen von definierter qualitativer und quantitativer Zusammensetzung.

Da Duftmarken sehr viele verschiedene chemische Verbindungen enthalten, bereitet die stoffliche Charakterisierung einzelner Informationen große Schwierigkeiten. Sie ist nur möglich, wenn das Tier als Reaktion auf eine olfaktorisch gewonnene Information ein spezifisches Verhalten zeigt. Mit dieser Verhaltensreaktion als Indiz müssen dann einzelne Komponenten der Duftmarke getestet werden. Lösen sie das spezifische Verhalten des Tieres aus, so können diese Komponenten als Träger der Information angesehen werden.

Spezifische Reaktionen auf Duftstoffe von Artgenossen sind bei Säugetieren nur schwer zu erkennen; zudem werden sie häufig

1 Zusammenfassungen: Ralls, 1971; Mykytowycz, 1972; Johnson, 1973; Sebeok, 1973; Thiessen und Rice, 1976

2 Daggs und Windsor, 1971, v. Holst und Lesk, 1975; Meese et al., 1975

durch die Erfahrungen des Tieres oder durch seinen momentanen physiologischen Zustand modifiziert (Leon und Moltz, 1972; Lydell und Doty, 1972). Bisher gelang erst die Charakterisierung eines intraspezifischen olfaktorischen Signals (Signoret und du Mesnil du Buisson, 1961). Es stammt aus dem Speichel des männlichen Hausschweins und bewirkt eine Duldungshaltung beim weiblichen Tier als Voraussetzung für eine erfolgreiche Kopula. Die wirksamsten Komponenten des Sekrets sind in diesem Fall Androstenon und Androstenol. Die Isolierung der beiden moschusartigen Riechstoffe aus Extrakten von Schweinehoden und die Aufklärung ihrer Struktur war schon Jahre zuvor gelungen (Prelog und Ruzicka, 1944).

Im Rahmen unserer Untersuchungen über das Sozialverhalten von *Tupaia belangeri* beschäftigen wir uns auch mit dem Duftmarkieren dieser Tiere. *Tupajas* markieren ihren Lebensraum mit Duftmarken, die aus Drüsen der Anal-, der Genital- und der Ventralregion stammen (Martin, 1968). Besonders auffällig ist ein Verhalten, das SPRANKEL (1961) als Sternalmarkieren bezeichnet. Dabei wird Sekret eines jugulo-sternalen Drüsenfeldes nach vorangegangenem Beschnupfern auf Objekte im Gehege oder auf Artgenossen gerieben. Sternalmarkieren ist vor allem bei Männchen stark ausgeprägt; sie markieren im Laufe des Tages mehrere hundert Mal ihren Wohnkäfig ohne erkennbaren Anlaß. Sternalmarkieren tritt erst mit Beginn der Geschlechtsreife auf und erreicht dann für jedes Individuum ein unterschiedlich hohes Niveau. Die Markieraktivität wird von Hormonen kontrolliert, die auf zentral-

nervöse Strukturen einwirken. Die Häufigkeit des Markierens wird durch äußere Einflüsse modifiziert; besonders stark wirken Sternalmarken fremder, fertiler Artgenossen, während kastrierte Männchen oder Weibchen kein Sternalmarkieren auslösen. Injiziert man kastrierten Männchen Testosteronpropionat, so wirkt ihr Sekret auch wieder stimulierend auf das Markierverhalten anderer Männchen, d.h.: in dem Sternaldrüsensekret fertiler Tupaja-Männchen müssen androgenabhängige Duftstoffe enthalten sein, die eine definierte und quantifizierbare Verhaltensreaktion des Duftempfängers auslösen: Sternalmarkieren.

Ziel der vorliegenden Untersuchungen war es:

1. diese Reaktion männlicher Tupajas auf Sternaldrüsensekret männlicher Artgenossen zu einem quantifizierbaren Biotest auszubauen.
2. das Sternaldrüsensekret männlicher Tupajas zu analysieren, um mit Hilfe des Biotests die Komponenten zu erfassen, die zur Auslösung des Sternalmarkierens wichtig sind.

B. MATERIAL UND METHODEN

I. Material

Gase: Alle Gase wurden von der Firma LINDE, Lohof bezogen;
Stickstoff, Kohlendioxyd und Helium waren nachgereinigt.

Chemikalien: Alle verwendeten Chemikalien waren p.A.Qualität
und wurden von MERCK, Darmstadt bezogen. Davon ausgenom-
men waren folgende Vergleichssubstanzen für die Dünnschichtchromatographie und die Gaschromatographie:

n-Alkane C ₆ -C ₁₆	SERVA, Heidelberg
diverse Lipide	Inst.f.Arzneimit- tellehre d. Univer- sität München*
diverse Phenylverbindungen	DROM, Baierbrunn*
n-Pentan wurde vor Gebrauch zweifach destilliert; Diäthyl- äther wurde über eine Säule mit Aluminiumoxyd gereinigt.	

Adsorbentien und stationäre Phasen:

Kieselgel zur Trockensäulen- chromatographie, Aktivität III (nach Brockmann und Schodder)	WOELM, Eschwege
20 x 20 cm Fertigplatten für die Dünnschichtchromatographie, Kieselgel F ₂₅₄	MERCK, Darmstadt
Aluminiumoxyd W 200 basisch	WOELM, Eschwege

* Herrn Dr. Glasl danke ich für die Überlassung der Vergleichs-
substanzen für die Dünnschichtchromatographie und Herrn Hude-
wenz für die Vergleichssubstanzen für die Gaschromatographie.

10% UCC-W-892 auf Chromo- sorb W-AW-DMCS; 80 - 100 mesh	HEWLETT-PACKARD, Böblingen
6% SE-30-CE-301 auf Chromo- sorb W-AW-DMCS; 80 - 100 mesh	HEWLETT-PACKARD, Böblingen

Säulenmaterial:

Nylon-Schlauchfolie 30 mm Durchmesser	WOELM, Eschwege
180 cm Glassäulen mit 2 mm Innendurchmesser	HEWLETT-PACKARD, Böblingen
180 cm Glassäulen mit 10 mm Innendurchmesser	NEUMANN, München
180 cm Stahlsäule mit 2 mm Innendurchmesser gefüllt mit 5% Carbowax M auf Chromosorb W-AW-DMCS; 80 - 100 mesh	HEWLETT-PACKARD, Böblingen
180 cm Stahlsäule mit 2 mm Innendurchmesser gefüllt mit 5% UCC-W-892 auf Chromosorb W-AW-DMCS; 80 - 100 mesh	HEWLETT-PACKARD, Böblingen

II. Versuchstiere

1. Tiere für die Gewinnung des Sternaldrüsensekrets

Für die Sekretgewinnung standen 42 adulte *Tupaia belangeri* (30 fertile und 6 kastrierte Männchen sowie 6 Weibchen) zur Verfügung. Sie lebten einzeln in Käfigen mit 0,5 m² Bodenfläche und 0,5 m Höhe. Die Tiere waren zum Teil als Juvenile oder Adulte in Thailand gefangen worden, zum Teil entstammten sie der Institutszucht. Ihr Alter betrug 2 - 8 Jahre.

Die Tiere lebten in einem künstlichen Tag-Nachtrhythmus von 12 : 12 Stunden mit einer Hellphase (= Aktivitätsphase) von 10⁰⁰ - 22⁰⁰ Uhr. Die Raumtemperatur lag bei 22 - 26°C.

Futter und Wasser waren stets ad libitum vorhanden. Die Nahrung bestand aus Futterpellets (Altromin-Diät für Tupajas). Die Tiere wurden jeden Monat einmal gewogen.

Diesen "Sekretlieferanten" wurde bis zu zweimal wöchentlich mit ca. 1 cm² großen Zellstoffstückchen mittels einer Pinzette Sternaldrüsensekret abgerieben, das bis zur Weiterverarbeitung unter n-Pentan im Kühlschrank aufbewahrt wurde.

2. Tiere für den biologischen Test

Drei handzahme, 4 - 7 jährige Tupaja-Männchen waren für den biologischen Test ausgewählt worden; alle drei kamen als adulte Wildfänge aus Thailand. Im Laufe der Untersuchungen starben zwei der Versuchstiere (Grimes und Gustav); sie wurden durch zwei andere adulte, männliche Wildfänge (Bucz und Ratatösker) ersetzt. Sie wurden ebenfalls in Einzelkäfigen (Bodenfläche

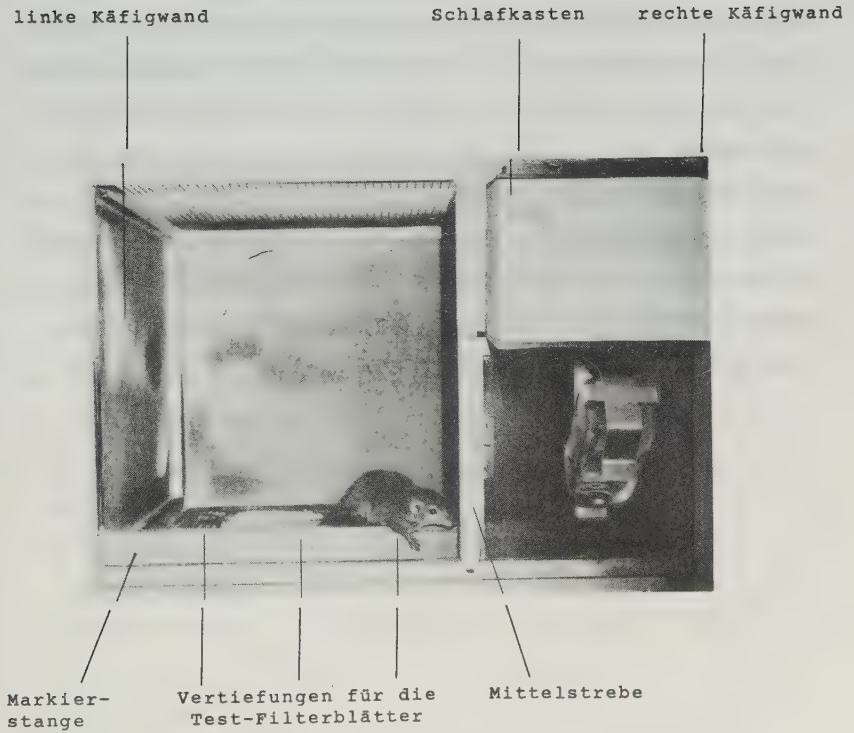


Abb. 1. Versuchstierkäfig mit Markierstange

ca. 0,5 m², Höhe 0,5 m) in einem gesonderten Versuchsraum gehalten. Die drei Käfige standen nebeneinander, so daß die Tiere von einem ca. 3 m entfernten Meßplatz beobachtet werden konnten. Boden und Decke der Holzkäfige trugen Maschendrahtbelastung; die Rückwand bestand ebenso wie die Seitenwände aus Holz; eine hochziehbare, durchsichtige Plexiglasscheibe bildete die Vorderfront (Abb. 1). Hinter der Scheibe lag ein vierkantiges PVC-Rohr - die "Markierstange" -, das zum Waschen herausgenommen werden konnte.

Die Haltungsbedingungen (Raumtemperatur, Futter, Wasser und Lichtverhältnisse) der Versuchstiere entsprachen denen der "Sekretlieferanten", allerdings begann ihr künstlicher Tag bereits um 8⁰⁰ Uhr und endete um 20⁰⁰ Uhr.

III. Untersuchungen zum biologischen Test

1. Messen und Markieraktivität

Die Versuchstiere Grimes, Willi und Gustav wurden an drei Tagen jeweils 12 Stunden während ihrer gesamten Aktivitätsphase beobachtet. Dabei wurde die Häufigkeit und die Verteilung ihres Sternalmarkierens protokolliert (Miniskript, METRAWATT). Zum Sternalmarkieren preßt das Tier seine Halsdrüsenregion an die Unterlage, schiebt den Körper etwas vorwärts, wobei Sekret abgestreift wird, und zieht ihn wieder in die Ausgangsstellung zurück. Dieser Akt wurde als ein Markiervorgang gezählt. Während des ganzen Beobachtungstages wurde den Tieren kein zusätzlicher Stimulus in ihrem Käfig geboten. Zur Auswertung wurden die Beobachtungen in Fünf-Minuten-Intervalle zusammengefaßt und daraus für jedes Tier folgende Mittelwerte bestimmt:

- a. durchschnittliche Ganztagesmarkieraktivität im gesamten Käfig (n=3)
- b. durchschnittliche Markieraktivität im Fünf-Minuten-Intervall (n=3x144)
- c. Tagesmittelwert der Markieraktivität an verschiedenen Markierstellen im Käfig (n=3).

2. Biologischer Test

Mit dem Biotest sollte die Wirksamkeit des Sternaldrüsensekrets bzw. seiner Komponenten während des Analysenganges kontrolliert werden. Für jeden Test wurde den Versuchstieren eine mit heißem Wasser und Extran (MERCK) sauber gereinigte

Markierstange in den Wohnkäfig gelegt. Die Stange besaß drei Vertiefungen zur Aufnahme von Filterblättchen mit Testsubstanzen. Eine darübergerlegte PVC-Schiene mit kleineren Löchern über den Testblättchen sicherte diese. Für jeden Test wurde die Markierstange frisch mit Filterblättchen (in zufälliger Anordnung) belegt und im Käfig dargeboten. Zwei Filterblättchen trugen dabei verschiedene Testsubstanzen, das dritte Blatt war unbehandelt und diente als Kontrolle. Jeder Test dauerte 5 Minuten. In dieser Zeit wurde bestimmt, wie oft markiert das Versuchstier die Markierstange bzw. den übrigen Käfig mit seiner Sternaldrüse? Die Verteilung der Duftmarken auf Markierstange bzw. Käfig wurde dann für jedes Tier und je Versuch in Prozent aller Markiervorgänge angegeben, die das Tier während der fünfminütigen Versuchsdauer vollzog.

Wie oft wird jedes der drei Filterblätter übermarkiert? Auch diese Angaben wurden in Prozent der gesamten ausgeführten Markiervorgänge angegeben.

Insgesamt wurden mit den Tieren im Verlauf der chemischen Aufarbeitung des Sternaldrüsensekrets folgende 11 Testreihen durchgeführt:

1. Leeres Filterpapier - leeres Filterpapier - leeres Filterpapier
2. ♀-Sternalsekret - ♂-Sternalsekret - leeres Filterblatt
3. ♂-Sternalsekret - ♀-Sternalsekret - leeres Filterblatt

4. Lipid-Fraktion - wasserlösliche Fraktion - leeres Filterblatt
 5. 1./2.-DC-Fraktion - 3./4./5.-DC-Fraktion - leeres Filterblatt *'
 6. 3.-DC-Fraktion - 4.-DC-Fraktion - 5.-DC-Fraktion
 7. Wasserdampf-Destillat - Destillationsrückstand - leeres Filterblatt
 8. Kohlendioxyd-Destillat - Destillationsrückstand - leeres Filterblatt
 9. 1.GLC-Fraktion - 4.GLC-Fraktion - leeres Filterblatt *²
 10. 2.GLC-Fraktion - 3.GLC-Fraktion - leeres Filterblatt
 11. synthetisches Duftgemisch - n-Pentan - leeres Filterblatt.
- Jede Testreihe bestand aus 9 - 30 Tests, die stets zwischen 10⁰⁰ und 20⁰⁰ Uhr durchgeführt wurden. Zur Auswertung der Testreihen wurde der T-Test nach Student verwendet.

*' DC - dünnschichtchromatographisch

*² GLC = gaschromatographisch

IV. Analyse des Sternaldrüsensekrets

1. Quantitative Sekretbestimmung

27 adulte Männchen wurden einen Monat lang an das Sekretabnehmen gewöhnt. Nach dieser Eingewöhnungsphase wurden von allen Tieren während eines Zeitraums mehrerer Monate 6 Sekretproben genommen und gewogen. Für jedes Tier wurden die Mittelwerte der produzierten Sekretmenge berechnet.

Bei der nachfolgenden Analyse wurde nach folgendem Schema (Abb. 8, Seite 33) vorgegangen.

2. Extraktion des Rohsekrets

Von den Zellstoffstückchen (aus etwa 100 Sekretabnahmen) wurde zunächst der Pentanüberstand dekantiert. Der Zellstoff wurde dann portionsweise in eine 10 ml Glasspritze gegeben und durch Hin- und Herbewegen des Kolbens noch viermal mit n-Pentan extrahiert. So konnte die Hauptmenge des Sekrets in weniger als 100 ml Lösungsmittel aufgenommen werden. Der Zellstoff wurde anschließend noch dreimal mit insgesamt 10 ml destilliertem Wasser extrahiert und der Wasserextrakt je dreimal mit 2 ml Diäthyläther ausgeschüttelt. (Bei späteren Aufarbeitungen unterblieb die Diäthylätherextraktion, weil die Hauptmenge der wirksamen Verbindungen ohne diesen Schritt in die Pentanfraktion gelangte.) Die vereinigten lipophilen Extrakte wurden auf 10 ml konzentriert.

Für den Biotest lag jetzt das Rohsekret in zwei gleich großen Fraktionen vor: einer Lipid-Fraktion und einer Wasser-Fraktion.

Zur Bestimmung der Mengenverhältnisse hydrophiler und lipophiler Anteile des Sternaldrüsensekrets wurden - wie oben beschrieben - 85 Sekretproben extrahiert. Die Lipid-Fraktion wurde unter einem Stickstoffstrom niedergetrocknet, bis kein Äthergeruch mehr feststellbar war und dann gewogen. Von der Wasser-Fraktion wurde zunächst Eiweiß abzentrifugiert, anschließend wurden Sediment und Überstand gefriergetrocknet und gewogen.

3. Orientierende Dünnschichtchromatographie der Lipid-Fraktion

Etwa 2 µl der Lipid-Fraktion (1 : 5 mit Pentan verdünnt) wurden im linken unteren Eck einer 20 x 20 cm DC-Fertigplatte aufgetragen und mit drei verschiedenen Laufmittelsystemen nacheinander (jeweils um 90° gedreht) entwickelt. Nach dem letzten Lauf und dem anschließenden Trocknen der Platte wurden die Substanzzonen mit Joddampf bzw. Vanillin-Schwefelsäure sichtbar gemacht.

Vanillin-Schwefelsäure wurde aus 3 g Vanillin, 50 ml Äthanol und 3 ml konz. H_2SO_4 hergestellt. Nach dem Besprühen mit dem Reagenz wurde die Dünnschichtplatte 10 Minuten auf 130° erhitzt.

Die Identifizierung der getrennten Verbindungen erfolgte durch Vergleichssubstanzen und durch Vergleich mit anderen dünnschichtchromatographischen Trennsystemen früherer Untersuchungen (v. Stralendorff, 1972). Bei der vorliegenden dünnschichtchromatographischen Analyse wurden folgende Laufmittelsysteme verwendet:

1. Laufmittel: Petroläther_{40 - 60}: Diäthyläther : Eisessig = 50 : 50 : 1. Die Platte wurde zweifach entwickelt und dazwischen getrocknet.
2. Laufmittel: Petroläther_{40 - 60}: Benzol = 70 : 30
Zweifachentwicklung mit Zwischentrocknung.
3. Laufmittel: Petroläther_{40 - 60}: Einfachentwicklung.

4. Präparative Trockensäulenchromatographie (nach Loev und Goodman, 1967)

30 cm Nylon-Schlauchfolie (ϕ = 30 mm: WOELM) wurden am unteren Ende zugebunden und perforiert. Diese Säule wurde anschließend mit ca. 50 g Kieselgel (Aktivität III, 30 mm nach Brockmann und Schodder: WOELM) bis zur Höhe von ca. 21 cm gefüllt und mit einer groben Glasfritte abgedeckt. Dann wurde der lipophile Extrakt des Sekrets (in 5 ml n-Pentan gelöst) aufgegeben und mit dreimal je 1 ml Pentan nachgespült. Den Probenaufgaben folgte das Entwickeln mit 50 ml Laufmittel (n-Pentan : Diäthyläther = 95 : 5), bis die mobile Phase völlig versickert war. Laufmittel, das am unteren Ende der Säule austrat, wurde verworfen. Die Trockensäule wies jetzt eine gelbe Bande und eine UV-absorbierende Bande auf. Anschließend wurde die Schlauchfolie an den Grenzen der Banden mit einem scharfen Messer zerschnitten. Auf diese Weise entstanden 5 Fraktionen. Diese wurden mit je 10 ml Diäthyläther eluiert, auf 2 ml eingengt und für jeden Biotest 50 μ l pro Fraktion entnommen. Zur dünnschichtchromatographischen Kontrolle wurden jeweils 2 μ l aus den

Fractionen 1 - 5 auf eine 20 x 20 cm DC-Fertigplatte Kieselgel F₂₅₄ (MERCK) aufgetragen und 20 Minuten entwickelt (Laufmittel : n-Pentan : Diäthyläther = 95 : 5). Die Platte wurde nach dem Trocknen mit Vanillin-Schwefelsäure besprüht und 10 Minuten auf 130°C erhitzt.

5. Wasserdampfdestillation

Die "Tübinger Apparatur" (Höltzel, 1963) zur Wasserdampfdestillation (Abb. 2) ist eine Modifikation der "neo-clevenger-Apparatur". Zur Destillation wird das Probengut in Zellstoff gewickelt und in den Drogenbehälter gegeben. Anschließend wird die Wasservorlage erhitzt, so daß heißer Wasserdampf durch das Probengut strömt und mit diesem im Kühler kondensiert. Im Auffangrohr sinkt das Wasser nach unten und fließt in die Wasservorlage zurück. Die wasserdampfgefährlichen Verbindungen verbleiben auf der Wasseroberfläche im Auffangrohr, bis sie nach Beendigung der Destillation über den Dreiwegehahn abgelassen werden.

3 ml konzentrierte Lipidfraktion wurden zur Gewinnung des Wasserdampfdestillats mit etwas Zellstoff aufgenommen. Dieser wurde in den Drogenbehälter eingebracht und anschließend 45 Minuten über Wasserdampf destilliert.

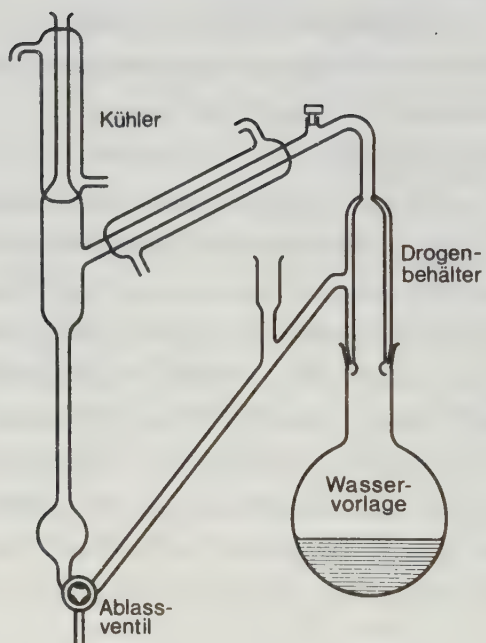


Abb. 2. "Tübinger Apparatur" zur Wasserdampf-destillation

6. Abtrennung der leichtflüchtigen Verbindungen aus der

Lipidfraktion

Zur Abtrennung geringer Mengen flüchtiger Verbindungen aus Fetten sind bisher keine geeigneten Verfahren bekannt. Häufig finden verschiedene Modifikationen von Apparaturen zur fraktionierten Destillation Verwendung (Zusammenfassungen: Burchfield und Storrs, 1962), doch treten dabei stets Verluste durch unzureichende Kühlfallen und nachgeschaltete Vakuumpumpen auf. Diese Verluste sind - gemessen an der geringen Menge verfügbaren Sternaldrüsensekrets - für unsere Belange zu groß. HONKANEN und KARVONEN (1966) verringerten die vakuumbedingten Verluste, indem sie die flüchtigen Verbindungen - nach dem Prinzip der Wasserdampfdestillation - mit einem CO_2 -Strom abtrennten und das Destillat dann zusammen mit dem Trägergas in der Kühlfalle niederschlugen. Mit ihrer Methode lassen sich allerdings Duftstoffe aus zäher Matrix nicht quantitativ abtrennen; außerdem kondensieren die Verbindungen leicht in den Gasleitungen. In den letzten Jahren wurden für die Entomologie, die Urologie und die Umweltanalytik drei verschiedene Methoden zur Spurenanreicherung aus der Luft und aus wässrigem Medium entwickelt.

a. Filter, die die Matrix durchlassen und die darin gelösten Verbindungen adsorbieren.⁴

⁴ Grob und Grob, 1971; Binder, 1973; Bertsch et al., 1974; Byrne et al., 1975; Spinner, 1975.

b. Vorrichtungen, in denen die Matrix von einem Gas durchströmt wird, das die flüchtigen Verbindungen mitreißt. Diese Verbindungen werden anschließend wieder durch Filter vom Träger getrennt.⁵

c. Vorrichtungen, in denen die Matrix ebenfalls vom Gas durchströmt wird; anschließend werden aber die gelösten Verbindungen durch Kühlfallensysteme vom Trägergas getrennt.⁶

Die Vorteile der genannten Anreicherungstechniken sind kleinste Lösungsmittelmengen, keine Überhitzung der Probe, keine Vakuumverluste, keine Kondensation des Destillats in Gasleitungen und keine Nebelbildung. Sie wurden beim Entwurf der eigenen Versuchsanlage mit berücksichtigt (Abb. 3).

Bei dieser Destillationsanlage wurden die Lipidfraktion, Glaskugeln und ein Rührmagnet in die Glasflasche mit Warmwassermantel gegeben. Die Flasche war über eine temperierbare Brücke mit einer zweiten Flasche verbunden, die als Kühlfalle diente und in einem Dewar mit flüssigem Stickstoff stand. Zur Austreibung der flüchtigen Verbindungen aus dem Fett wurden zunächst die Warmwassermäntel der ersten Flasche und der Brücke auf 60° temperiert. Gleichzeitig setzte der Magnetrührer die Glaskugeln in Bewegung, wodurch das flüssige Fett auf einer großen Fläche verteilt und ständig durchmischt wurde. Dann wurde am Boden des Gefäßes ein Kohlendioxidstrom eingeleitet, der die leicht-

5 Kaiser, 1971; Palo, 1971; Matsumoto et al., 1973; Robinson et al., 1973; Zlatkis et al., 1973; Grob und Zürcher, 1976.

6 Burson und Kenner, 1969; Bergert et al., 1974; Browne et al., 1974; Ellin et al., 1974; Kaiser, 1974.

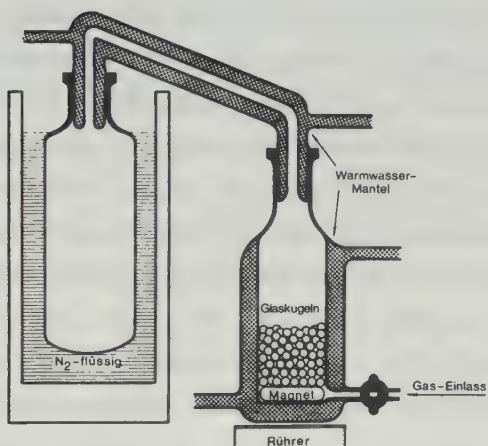


Abb. 3. Apparatur zur Abtrennung der leichtflüchtigen Verbindungen aus dem Sternaldrüsensekret. Das Spülgas (CO_2) passiert das zwischen den Glaskugeln verteilte Sekret und wird gemeinsam mit den Duftstoffen in der Kühlfalle aufgefangen. Der Gasstrom wird vor dem Einlaß in die Apparatur mit einem Rotameter auf 10 ml CO_2 pro Minute eingestellt. Vorlage und Brücke werden durch einen zirkulierenden Warmwasserstrom auf 60°C erwärmt.

flüchtigen Substanzen in die Kühlfalle spülte und sich dort mit ihnen niederschlug. Der Trägergasstrom konnte mit einem Rotameter auf eine Flußgeschwindigkeit von 10 ml pro Minute eingestellt werden. Nach sechsständiger Laufzeit wurden einige ml n-Pentan über einen Dreiwegehahn in der Gaszuleitung eingebracht, um Duftstoffe, die sich an den Wänden der Apparatur niedergeschlagen hatten, auch in die Kühlfalle zu bringen. Die Kühlfalle wurde danach gekoppelt und mit einem vorgekühlten Dewar-Gefäß in eine Tiefkühltruhe (-40°) gestellt. Hier konnte das CO_2 über Nacht langsam abdampfen; die flüchtigen Verbindungen blieben in Pentan gelöst zurück. Dieses Destillat wurde - ebenso wie die schwerflüchtigen Bestandteile des Destillationsrückstandes - in ca. 5 ml n-Pentan aufgenommen. Zur Orientierung über die Konzentrationsverhältnisse der Duftstoffe und des schwerflüchtigen Rückstandes wurden je 5 μl auf eine Kieselgelplatte getüpfelt, mit 50%iger Schwefelsäure besprüht und mit einem Heißluftgerät erhitzt. Während das Destillat nicht durch Verkohlen sichtbar gemacht werden konnte, war der Destillationsrückstand auch bei 100-facher Verdünnung noch gut sichtbar. D. h., der Lipidrückstand ist mindestens 100mal konzentrierter als die Duftstofflösung.

Zu der geringen Konzentration der flüchtigen Verbindungen im Sekret kam noch eine weitere Schwierigkeit: Das Duftstoffgemisch veränderte bei Raumtemperatur innerhalb von drei Minuten seine Zusammensetzung, wenn es auf einem Filterblatt

im Test der freien Luft ausgesetzt war. Dieser Abdampfeffekt ist von Insektenlockstoffen aus der Praxis der Schädlingsbekämpfung bekannt. Zur Verzögerung des Abdampfens flüchtiger Verbindungen setzt man diesen ein "Fixativ" (z. B. Paraffinöl) zu. Im Test reagierten die Versuchstiere jedoch mit Abweherschütteln auf das Paraffinöl, deshalb mußte nach einem besser geeigneten "Fixativ" gesucht werden. Hier bot sich der Destillationsrückstand an; er verzögert mit seinen schwerflüchtigen Verbindungen möglicherweise auch im ursprünglichen Sekret das Verdampfen der Duftstoffe. Da aber auch im Destillationsrückstand Komponenten enthalten sein können, die das Sternalmarkieren auslösen, mußte zuvor geprüft werden, ob der Rückstand, das Destillat oder beide Fraktionen im Biotest wirksam sind. Dazu folgende Überlegung: Testet man ein Gemisch A, das zu gleichen Teilen aus Destillationsrückstand und Destillat besteht, gegen ein Gemisch B, dem ebensoviel Destillationsrückstand, aber anstelle des Destillats reines Lösungsmittel (n-Pentan) beigemischt ist, so gibt es drei Möglichkeiten:

1. Beide Gemische stimulieren Sternalmarkieren; dann sind die wirksamen Komponenten entweder in beiden Fraktionen oder nur im Destillationsrückstand enthalten.
2. Nur Gemisch A stimuliert das Markieren; dann sind die wirksamen Komponenten im Destillat zu suchen.

3. Keines der beiden Gemische stimuliert Sternalmarkieren; dann sind die wirksamen Komponenten verloren gegangen oder ihre Konzentration ist im Gemisch zu gering.

Für den Biotest wurden daher ein Gemisch A (1 ml Destillat mit 1 ml Destillationsrückstand) und ein Gemisch B (1 ml n-Pentan mit 1 ml Destillationsrückstand) vorbereitet. Von den Gemischen A und B wurden bei jedem Test 50µl eingesetzt.

7. Gaschromatographische Analyse

Zur gaschromatographischen Analyse wurde ein HEWLETT-PACKARD-Research-Gaschromatograph, Modell 7620 A, verwendet. Er war für Doppelsäulenbetrieb mit zwei Flammenionisationsdetektoren (FID), einem Effluent-Splitter und beheiztem Ausgang ausgestattet. Ein HEWLETT-PACKARD-Schreiber-Integrator (Modell 3380 A) registrierte die Signale und wertete sie quantitativ aus.

Zur Auswahl eines geeigneten Trennsystems wurde das angereicherte Duftstoffgemisch auf gepackten Stahl- und Glas-säulen mit Phasen unterschiedlicher Polarität (siehe 1c und 1d) ohne Effluent-Splitter gaschromatographiert. Die beste Trennleistung zeigte 10%iges UCC-W-892 auf Chromosorb. Damit wurde eine präparative Glassäule (Innendurchmesser 10 mm) gepackt und aktiviert.

Nach dem Einbau des 1 : 10 Splitters wurden Brenngas- und Trägergasstrom optimiert und mit einem Gemisch von n-Alkanen (C_6 bis C_{16}) in Pentan getestet (Abb. 4).

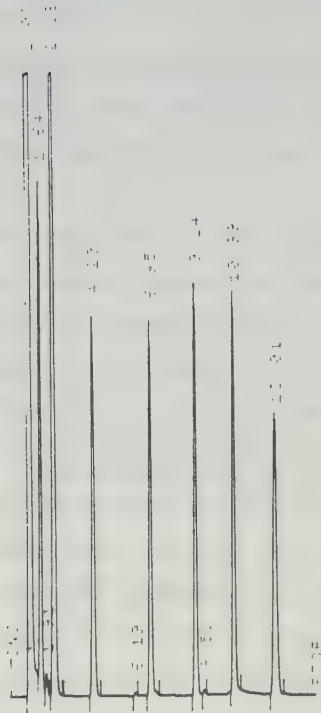


Abb. 4 Testchromatogramm für die präparative Gaschromatographie.

Probe: 7 μ l n-Alkane (C_6 - C_{16}) etwa 2%ig in n-Pentan

Empfindlichkeit: 64×10^3

Trägergas: 125 ml N_2 pro Minute

Brenngase: 38 ml H_2 /Minute und 400 ml Luft/Minute

Temperaturprogramm: $40^\circ - 200^\circ$ mit 15° pro Minute

Säulenmaterial: 180 cm Glassäule mit 10 mm Innendurchmesser

Stationäre Phase: 10% UCC-W-982 auf Chromosorb

Zur präparativen Analyse betrug der Trägergasstrom 125 ml N_2 /min. Die Brenngase wurden auf 38 ml H_2 /min und 400 ml Luft/min eingestellt. Die Temperatur des Einspritzblocks und des Detektors lag bei 250° bzw. 270°. Die Analyse wurde temperaturprogrammiert von 40° bis 200° mit einer Heizrate von 15°/min.

Wegen des Splitter-Systems konnten 9/10 der getrennten Peaks am Ofenausgang in Pentan aufgefangen werden. Die einzelnen Fraktionen wurden auf ihren Geruch geprüft und zur weiteren Untersuchung bei -20° in versiegelten Probengläsern (HEWLETT-PACKARD) aufbewahrt.

8. Identifizierung der isolierten Duftstoffe

Für die Identifizierung einzelner Duftstoffe stellte das Applikationslabor der Firma Finnigan seinen kombinierten Gas-Massenspektographen zur Verfügung. Der Gaschromatograph war mit Glaskapillaren ausgerüstet, die Analysenbedingungen sind im Ergebnisteil angegeben. Die ausgedruckten Massenspektren wurden durch Vergleich mit verschiedenen Spektrensammlungen interpretiert (Cornu und Massot, 1966; Stenhagen et al., 1974; Markey et al., 1974). Anschließend wurde authentisches Material gaschromatographiert, die Retentionszeiten verglichen und ein synthetisches Duftstoffgemisch im Biotest geprüft.

C. ERGEBNISSE

I. Markieraktivität der Versuchstiere unter Kontrollbedingungen

1. Zeitliche Verteilung: Die drei Versuchstiere markieren ihren Wohnkäfig mit Sternaldrüsensekret nach einem individuellen tageszeitlichen Muster, wenn der Käfig keine zusätzlichen Duftstoffe enthält (Abb. 5).

Grimes markiert durchschnittlich 521 ± 148 mal am Tag ($n=3$). Hierbei markiert er vormittags am intensivsten, legt danach und gegen 17³⁰ eine kurze Ruhepause ein - im allgemeinen verteilt er jedoch seine Sternalmarkier-Aktivität relativ gleichmäßig über den ganzen Tag. Im Mittel markiert er $3,7 \pm 0,2$ mal pro 5 Minuten.

Willi markiert durchschnittlich 1454 ± 96 mal am Tag ($n=3$). Er markiert vormittags ziemlich gleichmäßig mit hohen Durchschnittswerten (15 Marken in 5 Minuten). Am Nachmittag wechseln sich Ruhepausen und Aktivitätsschübe ab. Im Mittel markiert er $10,1 \pm 0,4$ mal pro 5 Minuten.

Gustav markiert pro Tag im Durchschnitt 1059 ± 182 mal ($n=3$). Er ruht sehr viel, setzt aber dafür während seiner kürzeren Aktivitätsphase viele Marken (Extremwert 91 Sternalmarken in 5 Minuten). Besonders nachmittags steigt die Markierfrequenz während der Aktivitätsschübe stark an. Im Mittel markiert Gustav $7,3 \pm 0,6$ mal pro 5 Minuten.

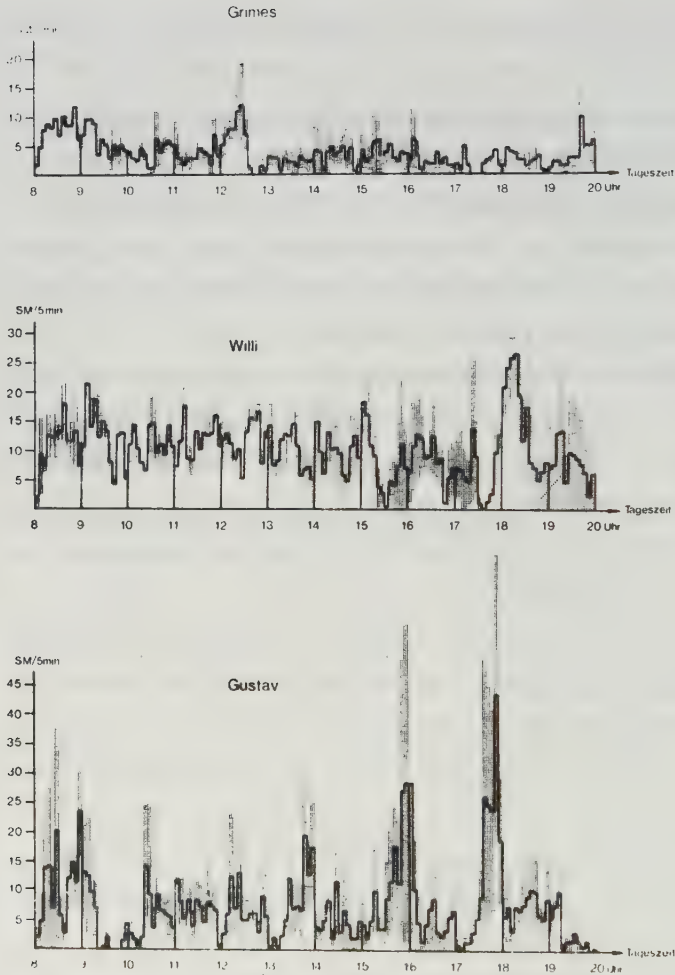


Abb. 5. Markieraktivität der Versuchstiere in ihrem Wohnkäfig im Laufe des Tages ohne zusätzlichen Artgenossenstimulus. Jeder Balken repräsentiert die Anzahl der Sternalmarken (SM), die das Tier während eines Fünfminuten-Intervalls setzt (Mittelwert aus drei Beobachtungstagen; die punktierten Balken stehen jeweils für die mittleren Fehler der Mittelwerte).

Alle drei Tiere zeigten vormittags zwischen 10³⁰ und 12⁰⁰ die geringste Abweichung vom Mittelwert ihrer individuellen Markieraktivität. Deshalb wurden spätere Tests während dieses Zeitraums durchgeführt.

2. Räumliche Verteilung: Um das räumliche Verteilungsmuster der Sternalmarken aller drei Versuchstiere miteinander vergleichen zu können, wurden vier Markierbereiche im Käfig festgelegt; die linke Käfigwand, die "Markierstange", der Schlafkasten mit der nahegelegten Mittelstrebe und die rechte Käfigwand (siehe auch Abb. 1).

Grimes markiert überwiegend den Eingang zu seinem Schlafkasten (ca. 60%) und die Mittelstrebe (26%). Die Käfigwände erhalten nur 4,5% (links) und 9,1% (rechts) der Sternalmarken (Abb. 6).

Willi markiert seinen Schlafkasten wenig (ca. 7%), dafür umsomehr die Mittelstrebe (56%). Die Seitenwände des Käfigs werden mit 24,6% (links) bzw. 11% (rechts) der Marken versehen.

Gustav markiert ebenfalls häufig die Mittelstrebe (ca. 53%); 18% der Marken entfallen auf den Schlafkasten und 10,7% (links) bzw. 17,9% (rechts) auf die Käfigwände.

Alle drei Versuchstiere markieren ihren Wohnkäfig - trotz beträchtlicher individueller Unterschiede - nach einem gleichen Prinzip: Die Sternalmarken werden hauptsächlich an die Käfigbegrenzungen und in die nähere Umgebung des Schlaf-

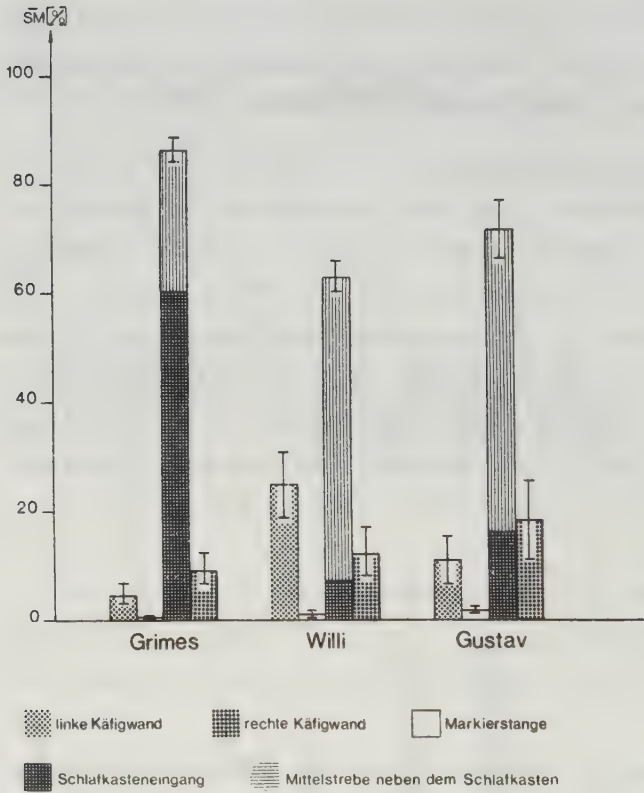


Abb. 6. Räumliche Verteilung der Sternalmarken im Wohnkäfig während eines Tages. Angegeben sind die Mittelwerte aus drei Beobachtungstagen mit den mittleren Fehlern der Mittelwerte (senkrechter Balken). Die Summe aller Sternalmarken, die das Versuchstier im Laufe des Tages setzte, wurde gleich 100% gesetzt.

kastens verteilt. Dabei werden exponierte Stellen, wie Ecken und Vorsprünge bevorzugt. Andere Bereiche im Käfig, wie z. B. die Markierstange werden nur selten markiert (bei allen Tieren weniger als 2 %, siehe auch Abb. 6).

II. Markieraktivität der Versuchstiere unter Testbedingungen

Um zu prüfen, ob sich die Markierhäufigkeit und/oder die räumliche Verteilung der Sternalmarken ändert, wenn die Tiere einen zusätzlichen Stimulus in ihrem Käfig erhalten, wurden zwei Testreihen durchgeführt: In der ersten Testreihe bekamen die Tiere je drei leere Filterblätter auf der Markierstange geboten; in der zweiten Testreihe wurde Sernaldrüsensekret von Tupajas auf die Filterblätter gegeben, und zwar enthielt ein Filterblatt das Sekret eines Männchens, eines das Sekret eines Weibchens und eines blieb jeweils leer.

Vergleicht man die Mittelwerte der Markierhäufigkeiten (Tab. 1, a - c, Spalte: Summe aller Marken), so markieren zwei der Tiere insgesamt häufiger, wenn sie Artgenossensekret geboten bekommen. Dieser Anstieg ist jedoch nur für Grimes signifikant ($p < 0,05$). Deutlich ändert sich jedoch die Verteilung der Sternalmarken im gesamten Wohnkäfig. Während in der ersten Testreihe die Markierstange nur mit 2,4% bis 9% aller Sternalmarken versehen wurde (Abb. 7), erhöht sich der Prozentsatz in der zweiten Testreihe auf das Drei- bis Zwanzigfache. Die Unterschiede sind bei allen

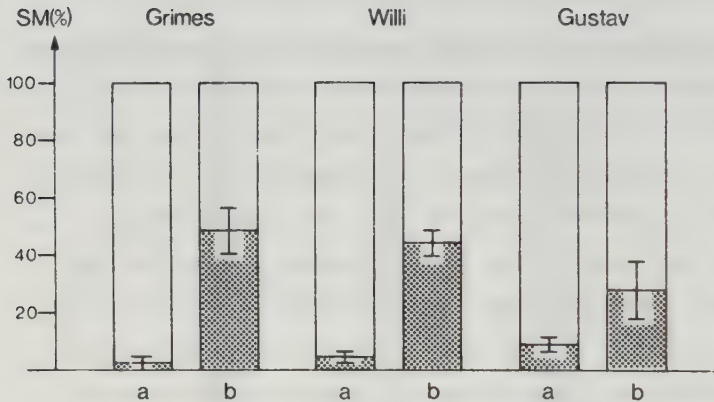


Abb. 7. Verteilung der Sternalmarken auf Markierstange (punktierter Balken) und restlichen Käfig (weißer Balken), wenn den Tieren saubere Filterblätter (a) oder Filterblätter mit Artgenossenduft (b) geboten wurde. Als Artgenossenduft diente Sternaldrüsensekret eines Männchens, bzw. eines Weibchens, das diesen mit einem Filterblatt abgerieben wurde. Angegeben sind die Mittelwerte aus jeweils 7 bis 10 Tests mit den mittleren Fehlern der Mittelwerte (senkrechter Balken). Die Summe aller Sternalmarken während eines Testzeitraumes von fünf Minuten wurde für jedes Tier gleich 100% gesetzt.

Tieren signifikant ($p_{\text{Grimes}} < 0,001$; $p_{\text{Willi}} < 0,001$; $p_{\text{Gustav}} < 0,001$).

Betrachtet man darüber hinaus die Verteilung der Sternalmarken auf der Markierstange (Tab. 1 a - c), so erkennt man deutlich, von welchem Filterblatt der stärkste Reiz ausgeht. Alle drei Versuchstiere markieren gezielt und nahezu ausschließlich das Filterpapier, das Sternaldrüsensekret eines männlichen Artgenossen trägt. (Zwei weitere Versuchstiere, deren Verhalten zu einem späteren Zeitpunkt untersucht wurde, lieferten das gleiche Ergebnis.) Dieses Verhalten der männlichen Tupajas - auf Sternaldrüsensekret männlicher Artgenossen mit gezieltem Übermarkieren zu reagieren - wurde bei der nachfolgenden Analyse des Sternaldrüsensekrets für den Biotest verwendet.

Testsubstanzen wurden als wirksam angesehen, wenn während der jeweiligen Testreihe ein signifikant größerer Prozentsatz der Sternalmarken auf die Markierstange gesetzt wurde, als während der ersten Testreihe mit leeren Filterblättchen. Weiterhin galt diejenige Fraktion als aktiv, die signifikant häufiger übermarkiert wurde, als die leeren Kontrollblätter derselben Testreihe.

III. Analyse des Sternaldrüsensekrets

1. Allgemeine Charakteristik des Sekrets

Das gelblich-weiße Sternaldrüsensekret ist in seiner Konsistenz fettig bis wachsartig und zeichnet sich durch einen charakteristischen Geruch aus. Bisweilen ist es durch Verunreinigungen - besonders aus dem Urin - dunkelbraun verfärbt.

Unter normalen Haltungsbedingungen produzieren die Männchen über längere Zeiträume hinweg konstante Mengen Sekret. Pro Tier und Probe konnten durchschnittlich $11,4 \pm 1$ mg Sekret gewonnen werden. Die individuelle Sekretmenge (Tab. 2) ist schwach mit dem Körpergewicht korreliert (Korrelationskoeffizient $r = 0,61$; $p < 0,001$).

Kastrierte Männchen liefern weniger als 2 mg Sternaldrüsensekret je Tier und Probennahme. Die Sekretion kann durch intramuskuläre Injektion von Testosteronpropionat (SCHERING) gesteigert werden. Die Duftstoffe, die das Sternalmarkieren von Artgenossen stimulieren, sind ebenso wie die Sekretproduktion androgenabhängig. Am Sekret kastrierter Tupaja-Männchen ist der charakteristische Tupaja-Geruch kaum noch feststellbar; auch im Biotest (Tab. 3 a) stimuliert das Sekret der Kastraten die Versuchstiere bedeutend weniger, als das Sekret fertiler Männchen.

2. Untersuchung des Rohsekrets

Das Sternaldrüsensekret fertiler Männchen enthält lipophile und hydrophile Komponenten. Aus 836 mg Rohsekret (85 Proben)

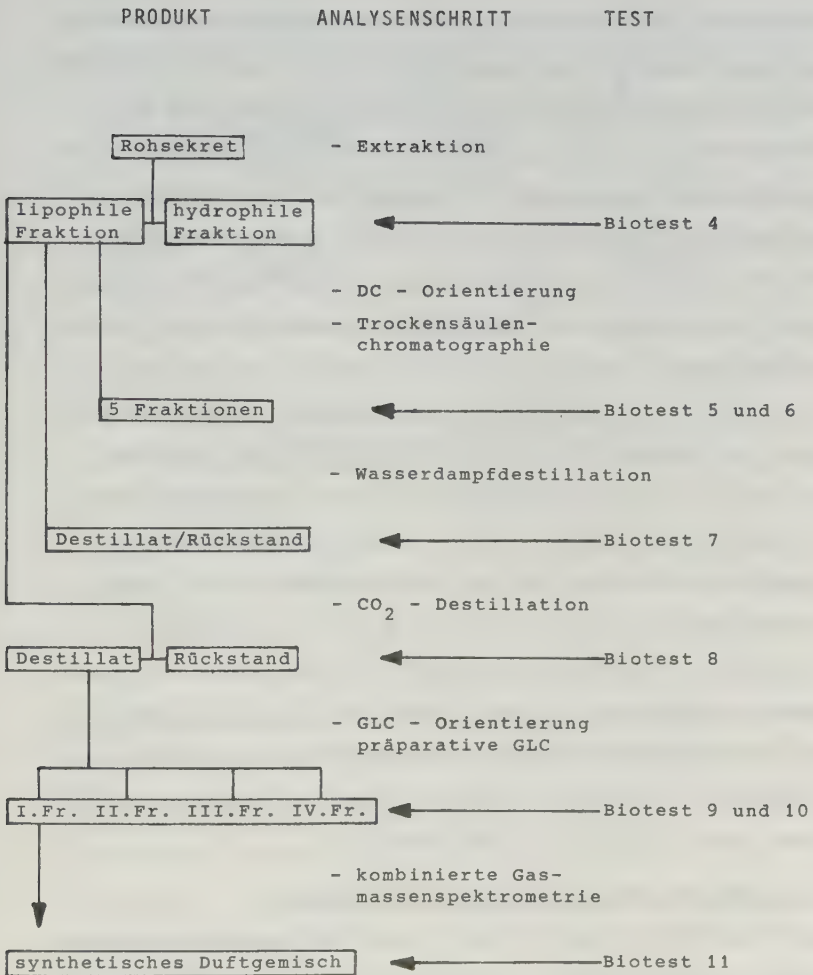


Abb. 8. Schema des Analysenganges

Abkürzungen: DC = Dünnschichtchromatographie,
GLC = Gaschromatographie, Fr. = Fraktion

konnten ca. 230 mg wasserlösliche Bestandteile und etwa 600 mg eines komplexen Lipidgemisches gewonnen werden. Die hydrophile Fraktion riecht hierbei deutlich anders, mehr wie Tupaja-Urin. Im weiteren Verlauf der Analyse wurde nach dem abgebildeten Schema (Abb. 8) vorgegangen. Für den Biotest wurden beide Fraktionen auf ein gleich großes Volumen gebracht (10 ml) und von jeder 50 μ l auf ein Filterblatt gegeben. Diese beiden Blättchen wurden zusammen mit dem leeren Kontrollpapier den Versuchstieren geboten. Die Ergebnisse sind in Tab. 3 b dargestellt. Das Rohsekret stimuliert auch nach der Extraktion noch das Sternalmarkieren. Besonders wirksam ist die Lipid-Fraktion; sie wird signifikant mehr übermarkiert ($p < 0,001$) als die Wasser-Fraktion und das leere Kontrollblatt. Auch die Wasser-Fraktion wird signifikant häufiger übermarkiert als das leere Filterblatt ($p < 0,05$); möglicherweise enthält sie noch Spuren der wirksameren Lipid-Fraktion oder zusätzliche, an der Auslösung des Sternalmarkierens beteiligte Komponenten. Da ihre Wirksamkeit aber viel geringer ist als die der Lipid-Fraktion, wurde sie nicht weiter untersucht.

3. Orientierende Dünnschichtchromatographie

Zur Dünnschichtchromatographie wurde die lipophile Fraktion etwa fünffach verdünnt. Davon wurden dann etwa 20 μ l auf einer Kieselgelplatte dreidimensional getrennt.

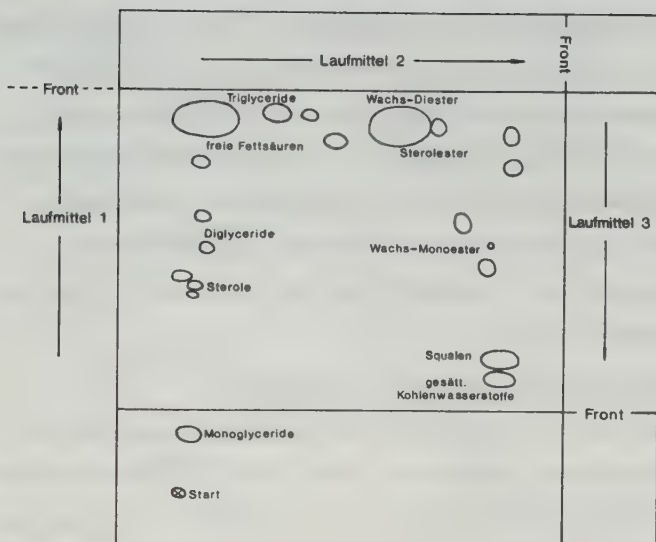


Abb. 9. Dreidimensionale Dünnschichtchromatographie der Lipid-Fraktion des Sternaldrüsensekrets männlicher Tupaja.

Dünnschicht-Fertigplatte, Kieselgel F₂₅₄ (Merck)

1. Laufmittel: Petroläther: Diäthyläther: Eisessig = 50 : 50 : 1

2. Laufmittel: Petroläther: Benzol = 70 : 30

3. Laufmittel: Petroläther

Die Platte wurde mit den Laufmitteln 1 und 2 jeweils zweifach entwickelt, mit Laufmittel 3 einfach entwickelt. Die Flecken wurden mit Vanillin-Schwefelsäure und Joddampf sichtbar gemacht.

Das Chromatogramm zeigt (Abb. 9) nach dem Anfärben ein komplexes Lipidgemisch. Hauptbestandteil dieser Fraktion des Sternaldrüsensekrets sind Wachs- und Sterolester. Daneben sind Kohlenwasserstoffe, Glyceride und Steroide vorhanden. Der Anteil an freien Fettsäuren und Phosphatiden ist geringer. Die Lipidzusammensetzung hat - abgesehen von einem großen blauviolett gefärbten Fleck im Bereich der Sterolester - Ähnlichkeit mit der Zusammensetzung des Hautfetts der Laborratte (Cooper, 1974).

4. Präparative Trockensäulenchromatographie

Die gesamte Lipidfraktion wurde auf einer Trockensäule weiter in Stoffklassen aufgetrennt (Abb. 10 a). Nach der Elution lag jede der fünf Fraktionen in 2ml Diätyläther vor. Hiervon wurden jeweils 20µl zur dünnenschichtchromatographischen Kontrolle (Abb. 10 b) und 50µl für den biologischen Test (Tab. 3 c und 3 d) verwendet.

Die weitere dünnenschichtchromatographische Auftrennung der 5 Fraktionen ergab:

Die 1. Fraktion enthält Squalen und Kohlenwasserstoffe, ihr Geruch ist dementsprechend unauffällig.

Die 2. Fraktion umfaßt Sterolester und Triglyceride, sie ist ebenfalls geruchlich neutral.

Die 3. Fraktion beinhaltet Triglyceride, freie Fettsäuren und Diglyceride. Zudem enthält sie eine süßlich riechende Tupaja-Komponente, die von einem unangenehmen grasartigen Geruch begleitet wird. (Die Beschreibung der Gerüche ist

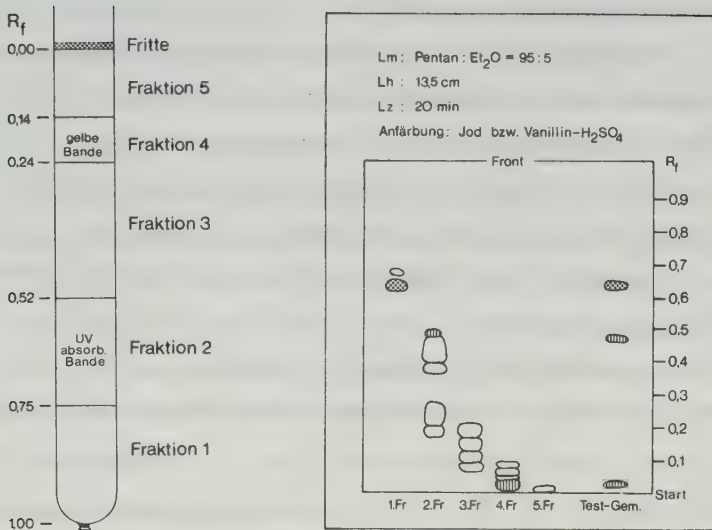


Abb. 10a. Präparative Trockensäulenchromatographie der Lipid-Fraktion

Säule: 30 cm Schlauchfolie (Innendurchmesser = 30 mm) mit 50 g Kieselgel, Aktivität III (Woelm) gepackt.

Laufmittel: 50 ml n-Pentan:Diäthyläther = 95 : 5

Abb. 10b. Analytische Dünnschichtchromatographie der präparativ gewonnenen 5 Lipid-Fractionen.

Dünnschicht-Fertigplatte, Kieselgel F₂₅₄ (Merck); Laufmittel (Lm), Laufzeit (Lz) und Laufhöhe (Lh) sind im Chromatogramm angegeben.

Vergleichssubstanzen: Squalen, Cholesterinstearat und Cholesterin (im Chromatogramm von oben nach unten)

nach der Klassifizierung von Geruchsqualitäten nach HARPER, 1975, ausgerichtet).

Die 4. Fraktion enthält Diglyceride und Sterole; sie ist geruchlich durch eine animalische Tupaja-Komponente und brenzlich riechende Bestandteile gekennzeichnet.

Die 5. Fraktion trägt Monoglyceride, Phosphatide und verschiedene, nicht näher untersuchte, mäßig polare bis polare Lipide. In dieser Fraktion herrscht besonders der Geruch nach Tupaja-Urin vor.

Zur Untersuchung der biologischen Wirksamkeit wurden die Fraktionen zunächst in 2 Gruppen zusammengefaßt (Tab. 3 c).

Die erste enthält die Fraktionen 1 und 2, die zweite die Fraktionen 3 bis 5. Die ersten beiden Fraktionen zusammen werden häufiger übermarkiert als die Kontrolle ($p < 0,001$); allerdings ist die stimulierende Wirkung der anderen Gruppe (Fraktionen 3 bis 5) etwa zweimal stärker ($p < 0,001$). Um die wirksamste unter diesen drei Fraktionen herauszufinden, wurden sie nunmehr einzeln gegeneinander getestet (Tab. 3 c). Dabei wurde die 3. Fraktion häufiger übermarkiert als die 5. Fraktion ($p < 0,05$); die Unterschiede zwischen 3. und 4. Fraktion sowie zwischen 4. und 5. Fraktion sind nicht signifikant. Das bedeutet: alle drei Fraktionen stimulieren Sternalmarkieren mehr oder weniger gleich stark.

Es liegt daher der Schluß nahe: Das Sternaldrüsensekret enthält mehrere Komponenten, die Übermarkieren auslösen.

Dennoch sind mit Sicherheit nicht alle Bestandteile der einzelnen Fraktionen wirksam; z. B. erwiesen sich synthetische Lipide wie Squalen, Cholesterinstearat, Tripalmitin und Lecithin, wie auch diverse ätherische Öle und alle im Analysengang verwendeten Lösungsmittel, in separaten Tests als unwirksam. Diese wirkungslosen Lipide müssen aber im nächsten Anreicherungs-schritt unbedingt abgetrennt werden, damit die wirksameren Duftstoffe erfaßt werden können.

Da mit der Säulenchromatographie keine befriedigende Anreicherung der Duftstoffe erzielt werden konnte, wurden die Stoffe anstelle nach ihrer Polarität nach ihrer Flüchtigkeit aufgetrennt.

5. Wasserdampfdestillation

Zur Abtrennung flüchtiger Verbindungen wurde 45 Minuten über erhitztem Wasserdampf destilliert und das Destillat anschließend in 5 ml n-Pentan aufgenommen. Man erhielt so eine klare, ölige Flüssigkeit, die geruchlich in keiner Weise mehr an das Sternaldrüsensekret erinnerte. Da auch der Destillationsrückstand nicht mehr nach Tupaja roch, war anzunehmen, daß die ursprünglichen Duftstoffe bei der Behandlung mit dem Wasserdampf zerstört wurden. Im Biotest reagierten die Tiere auf das Destillat und den Rückstand mit Schnauben und heftigem Abwehrschrütteln. Willi markierte nach mehreren vorsichtigen Nährungsversuchen beide Fraktionen vorsichtig einmal über, Grimes und Gustav mieden die

Markierstange und zogen sich in ihre Schlafkästen zurück. Es wurden daher keine weiteren Tests mit Wasserdampfdestillat unternommen, sondern nach einer schonenderen Methode zur Abtrennung der flüchtigen Verbindungen gesucht.

6. Abtrennung der flüchtigen Verbindungen im Kohlendioxydstrom

Zur Abtrennung der flüchtigen Verbindungen wurden ca. 100 frische Sekretproben (= etwa 1,25 ml Rohsekret) aufbereitet. Die Lipidfraktion wurde in die Destillationsapparatur (Abb. 3, S. 19) eingebracht und mit Kohlendioxyd durchströmt. Nach der Kohlendioxyd-Destillation lagen zwei Fraktionen zu je 5 ml vor: Das stark verdünnte Destillat (Konzentration weniger als 1 : 1000) mit dem intensiven Tupaja-Geruch und der konzentrierte, schwerflüchtige Destillationsrückstand. Im Rückstand war der Tupaja-Geruch nicht mehr feststellbar.

Zum Biotest (Tab. 3 e) wurde ein Gemisch A (1 ml Destillat und 1 ml Destillationsrückstand) und ein Gemisch B (1 ml n-Pentan und 1 ml Destillationsrückstand; s. a. Seite 21) hergestellt und von jedem Gemisch 50µl auf ein Filterblatt gegeben. Als Kontrolle diente wieder das leere Filterblatt.

Gemisch A wird signifikant häufiger übermarkiert als das Gemisch B ($p < 0,001$) und als das leere Filterblatt ($p < 0,001$). Auch Gemisch B wird noch übermarkiert, allerdings ist der Unterschied gegenüber dem leeren Kontrollblatt nicht signifikant.

Da die Wirkung des Destillationsrückstands - bezogen auf seinen prozentualen Anteil am Sternaldrüsensekret - vergleichsweise gering ist, wurde es bei der weiteren Analyse nicht mehr berücksichtigt.

7. Gaschromatographische Analyse

4 ml des "Kohlendioxyd-Destillats" wurden für die gaschromatographische Analyse unter Stickstoff auf ca. 150µl eingengt. Davon wurden 4µl gaschromatographiert (Abb. 11). Die getrennten Verbindungen wurden am Ofenausgang auf ihren Geruch geprüft, und die geruchlichen Charakteristika protokolliert.

Die Peaks mit den Retentionszeiten bis zu 5 Minuten gehören überwiegend zum Lösungsmittel; es handelt sich um Verunreinigungen, die sich durch Destillation und Eindampfen anreichern. Von den nachfolgenden Peaks zeigen zwei Gruppen charakteristischen Tupaja-Geruch. Die erste Gruppe umfaßt die Peaks mit den Retentionszeiten von 6,38 Minuten bis 7,53 Minuten. Ihr Geruch hat entfernte Ähnlichkeit mit dem der Phenyllessigsäure. Zur zweiten Gruppe gehören die Peaks mit den Retentionszeiten 10,04 und 10,61 Minuten. Diese Gruppe riecht ebenfalls nach Tupaja, aber süßlicher und blumiger (Harper, 1975) als die erste.

Für die weiteren Untersuchungen wurde das restliche Destillat (ca. 140µl) auf 40µl eingengt. Die gesamte Probenmenge wurde auf einmal in den Gaschromatographen eingespritzt,

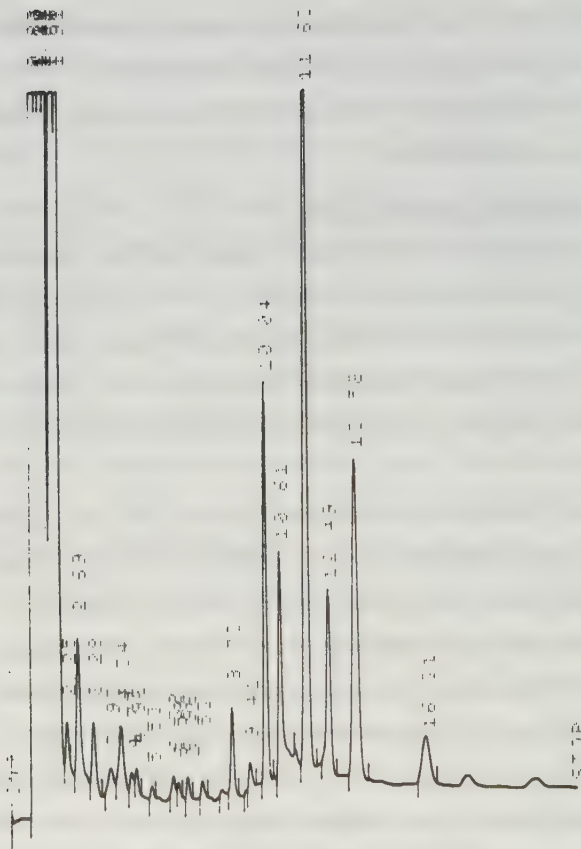


Abb. 11. Gaschromatogramm der flüchtigen Verbindungen aus der Lipid-Fraktion des Sternaldrüsensekrets.

Probe: 4 μ l Duftstofflösung in n-Pentan

Empfindlichkeit: 32×10^1 ; (Splitter 1:10)

Trägergas: 125 ml N_n /Minute

Brenngase: 38 ml H_2 /Minute und 400 ml Luft/Minute

Temperaturprogramm: 40° - 200°C mit 15°/Minute

Säulenmaterial: 180 cm Glassäule mit 10 mm Innendurchmesser

Stationäre Phase: 10% UCC-W-982 auf Chromosorb

und in vier Fraktionen aufgefangen; sie sind durch die Retentionszeiten der getrennten Verbindungen gekennzeichnet.

Die 1. Fraktion (5 Min. bis 8 Min.) und die 2. Fraktion (8 Min. bis 11 Min.) enthalten wieder die charakteristischen Tupaja-Duftstoffe. Auch die 3. Fraktion (11 Min. bis 14 Min.) hat noch einen schwach süßlichen Tupaja-Geruch. Die 4. Fraktion (14 Min. bis Ende) erscheint geruchlos.

Jeder Fraktion wurde wieder soviel n-Pentan zugegeben, daß sie 1 ml ausmachte. Davon wurden für den Biotest 0,5 ml entnommen und mit 0,5 ml Destillationsrückstand vermischt. Von diesen "fixierten" Fraktionen 1 bis 4 wurden dann 50 µl je Test auf ein Filterblatt gebracht.

Im Test (Tab. 3 f und 3 g) werden alle vier Fraktionen übermarkiert. Die Fraktionen 1 und 2 werden häufiger übermarkiert als die leeren Kontrollblätter (jeweils $p < 0,001$); die Unterschiede zwischen der 3. und 4. Fraktion und den jeweiligen Kontrollen sind nicht signifikant. Da die 1. Fraktion Sternalmarkieren am stärksten stimulierte, wurde sie bevorzugt weiter untersucht.

8. Identifizierung einzelner Duftstoffkomponenten

Zur Identifizierung einzelner Tupaja-Duftstoffe wurden die restlichen 0,5 ml der 1. Fraktion unter Stickstoff auf wenige Mikroliter eingeengt. Davon wurde 1 µl in einen kombinierten Gas-Massenspektrographen injiziert.

Das Gaschromatogramm (Abb. 12) entspricht in etwa einer Feinauftrennung der Verbindungen zwischen den Peaks RT 5,53 und RT 8,73 (RT = Retentionszeit) im Gaschromatogramm der Abb. 11. Die Zahlen über den Peaks des Chromatogramms (Abb. 12) verweisen auf die dazugehörigen Massenspektren (Abb. 13).

Zur Kontrolle wurde ein Gemisch aus Methylbenzoat, Acetophenon, Benzylalkohol, 2-Phenyläthanol, Phenol und p-Cresol hergestellt und unter den gleichen Analysenbedingungen (wie im Chromatogramm Abb. 11) gaschromatographiert.

Alle Verbindungen - außer Phenol - (Abb. 14) liegen im Bereich der 1. Fraktion. Es ist daher anzunehmen, daß sie authentische Bestandteile dieser Fraktion sind.

Für den Biotest (Tab. 3 h) wurde eine 10^{-5} ige Lösung von Methylbenzoat, p-Cresol, Acetophenon, Benzylalkohol und 2-Phenyläthanol in n-Pentan hergestellt und davon 50 μ l auf das Filterblatt zusammen mit Destillationsrückstand gegeben (Gemisch C). Zur Kontrolle wurde wieder n-Pentan mit Destillationsrückstand (Gemisch D) und ein leeres Filterblatt geboten.

Die Versuchstiere verteilen im Test signifikant mehr Sternalmarken auf die Markierstange als in der 1. Testreihe ($p < 0,001$). Allerdings ist der Unterschied wesentlich geringer als bei den vorangegangenen Biotests. Auch die Verteilung der Marken auf der Markierstange deutet auf eine stimulierende Wirkung des synthetischen Duftgemisches, d. h. es wird

DUFTSTOFF TUPAIA

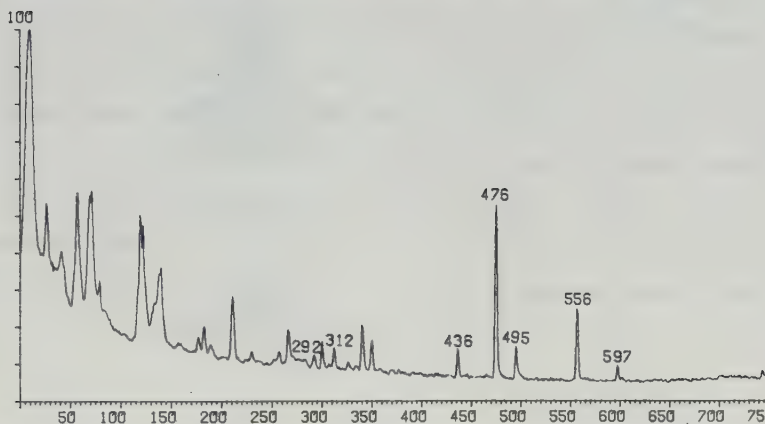


Abb. 12. 1μl Fraktion 1 zur kombinierten Gas-Massenspektrometrie auf einer 20 m Glaskapillare getrennt (FFAP-impregniert; 0,25 mm Innendurchmesser). Trägergas: 10ml He/Minute; Temperaturprogramm: 50°-150°C mit 3°/Min.

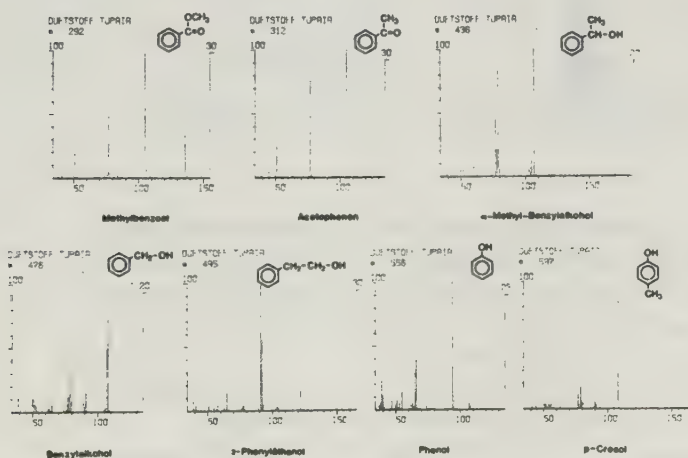


Abb. 13. Massenspektren der Peaks 292 bis 597

190

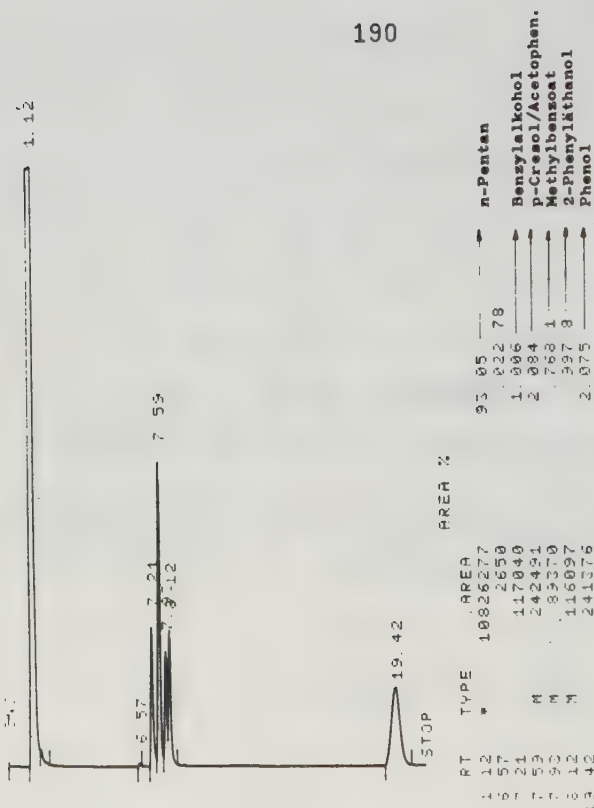


Abb. 14. Gaschromatogramm eines synthetischen Duftgemisches einiger identifizierter Sekretbestandteile.
 Probe: 3µl Phenylverbindungen etwa 2%ig in n-Pentan
 Empfindlichkeit: 64×10^3 ; (1:10 Splitter)
 Trägergas: 125 ml N_2 /Minute
 Brenngase: 38 ml H_2 /Minute und 400 ml Luft/Minute
 Temperaturprogramm: 40°-200°C mit 15°/Minute
 Säulenmaterial: 180 cm Glassäule mit 10 mm Innendurchmesser
 Stationäre Phase: 10% UCC-W-982 auf Chromosorb

signifikant häufiger übermarkiert als das leere Filterblatt ($p < 0,001$). Da aber der Destillationsrückstand ohne die zugesetzten Phenylverbindungen ungefähr genauso oft übermarkiert wird, wie das synthetische Duftgemisch und diesem zusätzlich der charakteristische Tupaja-Geruch fehlt, können die Phenylverbindungen zumindest nicht alleine für den Markierreiz verantwortlich sein. Wahrscheinlich enthält die 1. Fraktion (und vielleicht auch die beiden folgenden) noch andere, wirksamere Komponenten.

D. DISKUSSION

I. Biotest

Tupaja-Männchen sternalmarkieren - wie die Ganztagesbeobachtungen zeigen - ihren Wohnkäfig ohne erkennbaren Anlaß regelmäßig und mit individueller Intensität. Dieses "routinemäßige" Markieren im eigenen Käfig oder in neutraler Umgebung ist auch von anderen Tierarten bekannt ⁷. Es könnte - wie MYKYTOWYCZS (1976) für Kaninchen zeigte - der Aufrechterhaltung einer vertrauten Atmosphäre dienen. Ich bezeichne es in diesem Zusammenhang als basales Markieren. Tupaja-Männchen verteilen dabei unter meinen Haltungsbedingungen ihre Sternalmarken mehr oder weniger ungerichtet auf exponierte Stellen in der Nähe des Schlafkastens und an den Käfiggrenzen. Sie markieren sporadisch, bisweilen mit großer Intensität; zwischen solchen Aktivitätsphasen liegen Ruhepausen.

Im Gegensatz dazu markieren die Versuchstiere, wenn man ihnen Sternaldrüsensekret männlicher Artgenossen bietet, die fremde Duftmarke gezielt und unverzüglich über. Übermarkieren darf dabei nicht allein nach der gesamten Zahl der Markiervorgänge pro Zeit beurteilt werden, da manchmal eine Duftmarke in fünf Minuten mehr als hundertmal übermarkiert wird, während sie ein andermal nach ein- bis zweimaligem Übermarkieren nicht weiter beachtet wird. Es muß vielmehr im Zusammenhang mit der

7 Thiessen et al., 1968; Hart, 1974; Johnson, 1975; Peters und Mech, 1975; Balakrishnan und Alexander, 1976; Mykytowycz, 1976.

momentanen Aktivität des Tieres gesehen werden. Übermarkieren ist dadurch gekennzeichnet, daß eigene Sternalmarken sofort nach dem Beschnupfern direkt auf die fremde Duftmarke gesetzt werden, und dabei die übrigen Markierstellen im Käfig vernachlässigt werden: Es findet also eine Umverteilung der Sternalmarken im Käfig statt. Übermarkieren als unmittelbare, gegen fremde Duftmarken gerichtete Reaktion des Signalempfängers wurde ebenfalls bei vielen Säugetierspezies beschrieben⁸. Der funktionelle Unterschied gegenüber dem basalen Markieren mag darin bestehen, daß es unter anderem die Information "Identität des Markierers" der fremden Duftmarke verwischt. So konnten v. HOLST und LESK (1975) mit Dressurversuchen zeigen, daß Sternalmarken nach dem Übermarkieren mit dem fremden Sternaldrüsensekret vom Versuchstier nicht mehr mit Sicherheit wiedererkannt werden. Außerdem sind an der Auslösung der beiden Markierverhaltensweisen, wie die Untersuchungen von v. HOLST und BUERGEL-GOODWIN (1975) beweisen, verschiedene zentralnervöse Systeme beteiligt. Der Unterschied zwischen basalem Markieren und Übermarkieren wird in Abb. 15 zusammengefaßt.

Um Übermarkieren als Testreaktion für die Wirksamkeitskontrolle intraspezifischer Duftstoffe heranziehen zu können, muß seine Spezifität gewährleistet sein. Verschiedene Säugetiere

⁸ Ralls, 1971; Rasa, 1973; Black-Cleworth und Verberne, 1975; Johnson, 1975; Johnston, 1975, Peters und Mech, 1975.

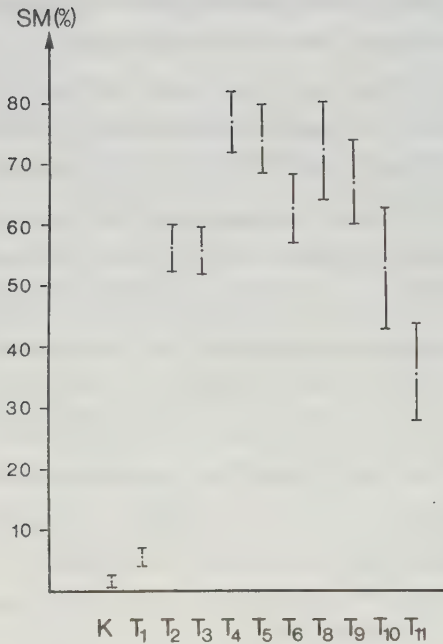


Abb. 15. Prozentuale Verteilung der Sternalmarken (SM) auf die Markierstange (und den übrigen Käfig) in verschiedenen Situationen.

K = unter Kontrollbedingungen (Ganztagsbeobachtungen)

T = unter Testbedingungen (Biotests 1 bis 11)

dabei wurde: in K und T₁ kein Artgenossenduft geboten, in T₂ und T₃ Sternaldrüsensekret fertiler Männchen und Weibchen bzw. fertiler Männchen und kastrierter Männchen geboten; in T₄ bis T₁₀ wurden Fraktionen des Sekrets im Fortgang der Analyse geboten; in T₁₁ wurden synthetische Phenylverbindungen mit schwerflüchtigen Lipiden des Sekrest vermischt getestet.

Die Werte sind Mittelwerte der Sternalmarken auf der Markierstange und deren mittlere Fehler (Einzelheiten siehe Tab. 1 und 3).

(Zusammenfassung: Ralls, 1971; Johnson, 1973) markieren neu ins Gehege eingeführte Gegenstände über. Auch Tupajas markieren neue Gegenstände, die nicht nach Artgenossen riechen. Allerdings werden diese fast ausschließlich mit Urin und nicht mit Sternaldrüsensekret markiert. Das gleiche gilt auch für alle unspezifischen Duftstoffe (diverse ätherische Öle und niedermolekulare Kohlenwasserstoffe, -Alkohole, -Ester, -Säuren, -Amine, -Ketone usw. wurden getestet). Manchmal wird die ein oder andere Verbindung auch "irrtümlich" mit Sternaldrüsensekret übermarkiert. Das Übermarkieren unterbleibt jedoch bei Wiederholung des Tests. Übermarkieren mit Sternaldrüsensekret ist daher eine spezifische Reaktion auf Duftstoffe von Artgenossen.

II. Analyse des Sternaldrüsensekrets

Sternaldrüsensekret von Tupajas liegt - wie die dünnschichtchromatographische Analyse demonstriert - als komplexes Lipidgemisch vor. Solche Lipidgemische sind für Hautdrüsensekrete von Säugetieren charakteristisch⁹; ihre Zusammensetzung ist artspezifisch. Das Sekret männlicher Tupajas umfaßt ein breites Spektrum polarer bis apolarer Verbindungen (freie Fettsäuren bis Squalen) von unterschiedlicher Flüchtigkeit. Mit großer Wahrscheinlichkeit tragen nicht alle Verbindungen des

9 Fillies, 1968; Brownlee et al., 1969; Sansone und Hamilton, 1969; Nicolaides et al., 1970; Goodrich und Mykytowycz, 1972; Karunakaran et al., 1973; Cooper et al., 1974; Gray und Yardley, 1975; Logani et al., 1975; Burger et al., 1976.

Lipidspektrums zum Übermarkier-Stimulus des Sekrets bei.

WILSON und BOSSERT (1963) nehmen an, daß die Mehrheit aller "Pheromone"* fünf bis zwanzig Kohlenstoffatome enthält und Molekulargewichte zwischen 80 und 300 hat.

In diesem Bereich liegen auch alle bisher identifizierten Insektenduftstoffe; das größte Molekulargewicht hat Gyplur ($C_{18}H_{34}O_3$) mit 298 (Jacobson und Beroza, 1960). Im Vergleich dazu liegen die Molekulargewichte der meisten, vom Menschen verwendeten Parfüm- und Aromastoffe zwischen 135 und 155; als oberer Grenzwert wird 310 angenommen (Rothe und Specht, 1976). Da diese Werte sogar mit den Insektenduftstoffen erstaunlich gut übereinstimmen, ist anzunehmen, daß für Säugetierduftstoffe allgemein ähnliche Größenordnungen gelten. SMITH und Mitarbeiter (1976) isolierten allerdings "flüchtige Hauptkomponenten" aus Duftmarken von Krallenaffen mit 20 bis 30 Kohlenstoffatomen, ihre olfaktorische Wirksamkeit ist aber bislang nicht nachgewiesen.

Sternaldrüsensekret von Tupajas enthält ebenfalls eine Anzahl von Verbindungen, die aufgrund ihres Molekulargewichts und ihrer Polarität als Duftstoffe geeignet sind. Der größte Teil dieser Verbindungen ist lipophil (siehe Biotest 4). Die einzelnen Komponenten gehören aber verschiedenen Stoffklassen

* "Pheromone sind Stoffe, die der chemischen Kommunikation zwischen Individuen einer Art dienen" (Karlson und Schneider, 1973). Ich habe diesen Begriff vermieden, da seine Abgrenzung Schwierigkeiten bereitet und die Anwendung auf Säugetierduftstoffe zum gegenwärtigen Zeitpunkt problematisch ist.

an und waren deshalb bei der trockensäulenchromatographischen Trennung auf alle Fraktionen verteilt. Die weitere chromatographische Anreicherung der Duftstoffe gelang nicht, weil ihr prozentueller Anteil in den Fraktionen zu gering war und der Biotest keine eindeutige Entscheidung für eine der Fraktionen zuließ. Wie gering der Duftstoffanteil am Sekret ist, wird bei der Anreicherung durch die Kohlendioxyd-Destillation deutlich. Wenn man davon ausgeht, daß bei einem Versuchsansatz 100 Sekretproben ca. 1,25 ml Sternaldrüsensekret lieferten und 4 µl aus ca. 150 µl Destillat ca. 15 nl Duftstoffe enthielt (die Berechnung beruht auf einem Vergleich der Fläche der Duftstoffpeaks im Gaschromatogramm mit dem quantitativen Chromatogramm einer bekannten Menge Phenylverbindungen), so enthalten 1,25 ml Sternaldrüsensekret etwa 0,65 µl Duftstoffe. Das entspricht einem Verhältnis von 1 : 2000. Von diesen Duftstoffen ist aber wahrscheinlich nur ein Teil für den Sternalmarkierreiz verantwortlich. Die identifizierten Phenylverbindungen entsprechen z. B. 1/300 der Duftstoffmenge, das ist der 600 000 ste Teil des Sternaldrüsensekrets.

Wenn nur 0,05 Prozent des Sekrets als Träger des olfaktorischen Signals Bedeutung hat, so stellt sich die Frage nach der Funktion der Hauptbestandteile des Sternaldrüsensekrets. Generell wird Hautlipiden eine Schutzfunktion für die Körperbedeckung zugeschrieben, z. B. als Schutz vor Durchnässung (Zusammenfassung: Strauss et al., 1976). Das Hautfett enthält aber außerdem eine Reihe von Verbindungen, die für viele

(u. a. auch pathogene) Mikroorganismen toxisch sind (Nicolaidis, 1974). In geringem Umfang sind Hautdrüsen auch an der Ausscheidung unverwertbarer Stoffwechselprodukte beteiligt.

Wahrscheinlich haben die schwerflüchtigen Bestandteile des Sternaldrüsensekrets auch für die olfaktorische Kommunikation Bedeutung, obwohl sie nicht unmittelbar an der Signalübertragung beteiligt sind. Dafür sprechen zwei Befunde: Erstens sind sie androgenabhängig, genau wie die leichtflüchtigen Verbindungen. Diese Androgenabhängigkeit schwerflüchtiger Lipide wurde auch bei "Duftdrüsen" anderer Säugetiere¹⁰ gefunden. Zweitens werden diese Sekretbestandteile immer zusammen mit den leichtflüchtigen Duftstoffen abgesetzt. Dieses Gemisch aus Sterolen mit Estern langkettiger Fettsäuren und Alkohole hat, wie die Biotests 8 bis 11 zeigen, eine "Fixativ"-Funktion für die leichtflüchtigen Bestandteile des Sternaldrüsensekrets. D. h. es verhindert das schnelle Verwittern der Duftmarken. Diese Annahme konnte durch Dressurversuche bestätigt werden (v. Holst und Lesk, 1975). Tupajas erkennen noch 8 Monate altes Sternaldrüsensekret des Artgenossen wieder, auf dessen Geruch sie dressiert wurden. Das bedeutet, die Information der Duftmarken hat sich in dieser Zeit nicht verändert.

Sekundär liefern Hautdrüsensekrete auch den Nährboden für symbiontische Mikroorganismen. Diese erzeugen durch ihren

10 Ebling et al., 1970; Thody und Shuster, 1970; Sansone-Bazzano, 1972; Harmsen und Sittig, 1973; Hodgins und Hay, 1973; Cooper et al., 1974.

Stoffwechsel wieder Abbauprodukte mit Duftstoffeigenschaften. Solche Symbionten wurden bisher vor allem im Vaginalsekret von Primaten¹¹ und im Analdrüsensekret verschiedener Carnivoren¹² nachgewiesen.

Beim Mungo konnte GORMAN (1976) zeigen, daß ein breites Spektrum verschiedener Fettsäuren, die im Analdrüsensekret des Mungos durch Bakterienstoffwechsel entstehen, aufgrund der unterschiedlichen Konzentration seiner Komponenten die Individualunterscheidung durch die Tiere ermöglicht.

Der Abbau von Hautdrüsensekreten durch Mikroorganismen eröffnet neue Aspekte zur Entstehung der Säugetierduftstoffe. Damit hat das Tier also grundsätzlich drei Möglichkeiten Duftstoffe zu erzeugen: Erstens durch Symbiontenstoffwechsel, zweitens durch Aufnahme mit der Nahrung und Wiederausscheidung durch die Hautdrüsen und drittens durch körpereigene Synthese. Zur zweiten Möglichkeit gibt es bisher keine systematischen Untersuchungen. LEDERER (1959) diskutiert diese Möglichkeit für Herbivoren anhand seiner Befunde über das Analdrüsensekret des Bibers. Diese Vorstellungen werden durch eigene Beobachtungen unterstützt (Hoeck und v. Stralendorff, unveröffentlichte Ergebnisse). Buschschliefer scheiden ätherische Öle, die in einer ihrer Futterpflanzen (*Iboza spec*) enthalten

11 Rhesusaffe: Curtis et al., 1971; Mensch: Michael et al., 1974; Keith et al., 1975.

12 Mungo: Gorman et al., 1974; Fuchs: Albone und Perry, 1975.

sind, fast unverändert mit dem Nackendrüsensekret wieder aus. Die soziale Funktion des Nackendrüsensekrets ist jedoch bisher ungeklärt.

Bei verschiedenen Säugetieren konnte körpereigene Duftstoffsynthese¹³ nachgewiesen werden, bei anderen¹⁴ ist die Herkunft noch unbekannt.

Auch die Herkunft der identifizierten Tupaja-Duftstoffe läßt bislang nur Vermutungen zu. Phenylverbindungen - teilweise sogar die gleichen - kommen auch in Hautdrüsensekreten und Körperflüssigkeiten anderer Säugetierarten vor¹⁵. Ihre Entstehung ist ebenfalls nicht völlig geklärt.

Bei Tupajas kann die Aufnahme der Duftstoffe aus dem Futter weitgehend ausgeschlossen werden, da Männchen, Weibchen und Kastraten die gleiche Standard-Diät erhalten - dennoch ist ihre Duftstoffproduktion qualitativ und quantitativ verschieden.

13 Zusammenfassung: Lederer, 1950; Patterson, 1968; Smith, 1969.

14 Zusammenfassung älterer Arbeiten: Lederer, 1950; Brownlee et al., 1969; Müller-Schwarze et al., 1974; Thiessen et al., 1974; Ellin et al., 1974; Matsumoto et al., 1973; Wheeler et al., 1975; Wong et al., 1975; Burger et al., 1976; Do et al., 1975; Burger et al., 1977.

15 Benzylalkohol und Acetophenon beim Biber: Lederer, 1950; Phenyllessigsäure, p-Hydroxyphenyllessigsäure, p-Hydroxyphenylpropionsäure beim Rotfuchs: Albane und Eglington, 1974; Phenyllessigsäure beim Gerbil: Thiessen et al., 1974; Phenol und Kresol beim Hausschwein: Patterson, 1976; Acetophenon und Benzaldehyd beim Menschen: Stafford et al., 1976; Kresol beim Buntbock: Burger et al., 1977.

Gegen die Eigensynthese spricht die Tatsache, daß Säugetiere Aromaten nicht selbst aufzubauen vermögen. Die identifizierten Phenylverbindungen könnten nur aus dem Tyrosin- oder Phenylalaninstoffwechsel stammen; der Metabolismus dieser Aminosäuren führt aber nicht zu diesen Verbindungen.

Als dritte Möglichkeit kommt der Stoffwechsel symbiontischer Mikroorganismen für die Entstehung der Duftstoffe in Betracht. BAUMANN schlug bereits 1878 folgenden bakteriellen Tyrosinabbau vor:

Tyrosin - p-Hydroxyphenylpropionsäure - p-Äthylphenyl-
alkohol - p-Hydroxyphenylelessigsäure - p-Cresol -
Hydroxybenzoesäure - Phenol.

Neuere Untersuchungen zeigen, daß Mikroorganismen tatsächlich befähigt sind, Phenylverbindungen und Terpene aus Minimalmedium herzustellen (Collins, 1976). Bisher wurden p-Methylacetophenon, Phenyläthylalkohol, Methylbenzoat, Benzylalkohol und Phenol gefunden, d. h. ein Großteil der Verbindungen, die auch im Sternaldrüsensekret der Tupajas vorkommen. Vielleicht stellen die androgenabhängigen Lipide des Sternaldrüsensekrets den Nährboden für solche Mikroorganismen dar? Ob Tupajas tatsächlich solche Symbionten besitzen, wurde bisher nicht überprüft.

Abschließend ist zu den identifizierten Duftstoffen zu bemerken: Die Phenylverbindungen sind ungeachtet ihrer Entstehung authentische Bestandteile des Sternaldrüsensekrets

männlicher *Tupaia belangeri*. Sie sind Bestandteil des Tupaja-
duftes, der Sternalmarken bei männlichen Artgenossen aus-
löst. Als Teil eines chemischen Signals sind sie weniger wirk-
sam als das ganze Signal; deshalb werden die Phenylverbindungen
auch weniger übermarkiert als das gesamte Destillat (Abb. 15:
vergleiche T_{11} und T_8). Möglicherweise sind aber andere, bisher
nicht identifizierte Komponenten wirksamer. Um das zu entschei-
den, müssen künftig weitere Komponenten der Duftstoff-Fraktion
isoliert, identifiziert und einzeln, sowie in Kombination ge-
testet werden.

Biotest 1 : Beeinflussung der Markieraktivität durch eine saubere Markierstange mit frischen Filterblättern

Tier	Test Nr.	Sternalmarkiervorgänge in 5 Minuten				
		Summe aller Marken	davon auf der Markierstange			Marken auf der Stange in % der Gesamtsumme
			Leerblatt	Leerblatt	Leerblatt	
GRIMES	1	7	0	0	0	0 %
	2	2	0	0	0	0 %
	3	3	0	0	0	0 %
	4	5	0	0	0	0 %
	5	6	0	0	0	0 %
	6	9	0	0	0	0 %
	7	8	0	0	0	0 %
	8	7	0	0	0	0 %
	9	9	1	0	1	22 %
Mittelwert ($\bar{X} + E$)		6,2 $\pm$ 0,8				2,4 $\pm$ 2,4 %

Biotest 2 : Beeinflussung der Markieraktivität durch eine saubere Markierstange mit Filterblättern, die Artgenossensekret tragen

Tier	Test Nr.	Sternalmarkiervorgänge in 5 Minuten				
		Summe aller Marken	davon auf der Markierstange			Marken auf der Stange in % der Gesamtsumme
			♀ -Sekret	♂ -Sekret	Leerblatt	
GRIMES	1	9	0	3	0	33,3 %
	2	10	0	2	0	20,0 %
	3	17	0	8	0	47,0 %
	4	13	0	5	0	38,4 %
	5	9	1	2	0	33,3 %
	6	5	0	3	0	60,0 %
	7	10	0	7	0	70,0 %
	8	5	0	5	0	100,0 %
	9	11	1	3	0	36,4 %
Mittelwert ($\bar{M} + E$)		9,9 $\pm$ 1,2				48,7 $\pm$ 8,1 %

Tab. 1a. Sternalmarkierverhalten des Versuchstieres Grimes unter Testbedingungen mit und ohne Artgenossenduft. Dem Tier wurden in jedem Test gleichzeitig drei Filterblätter auf seiner Markierstange geboten; anschließend wurden die Markierhäufigkeit und die Verteilung der Sternalmarken auf der Markierstange und im restlichen Käfig bestimmt.

Biotest 1 : Beeinflussung der Markieraktivität durch eine saubere Markierstange mit frischen Filterblättern

Tier	Test Nr.	Sternalmarkiervorgänge in 5 Minuten				
		Summe aller Marken	davon auf der Markierstange			Marken auf der Stange in % der Gesamtsumme
			Leerblatt	Leerblatt	Leerblatt	
WILLI	1	19	0	0	1	5,3 %
	2	7	0	0	0	0 %
	3	10	1	0	0	10,0 %
	4	19	0	0	3	15,8 %
	5	20	0	0	0	0 %
	6	12	0	0	0	0 %
	7	15	0	0	0	0 %
	8	18	0	1	1	11,1 %
	9	11	0	0	0	0 %
Mittelwert ($\bar{X} \pm E$)		14,6 $\pm$ 1,6				4,7 $\pm$ 2,1 %

Biotest 2 : Beeinflussung der Markieraktivität durch eine saubere Markierstange mit Filterblättern, die Artgenossensekret tragen

Tier	Test Nr.	Sternalmarkiervorgänge in 5 Minuten				
		Summe aller Marken	davon auf der Markierstange			Marken auf der Stange in % der Gesamtsumme
			q-Sekret	o-Sekret	Leerblatt	
WILLI	1	28	0	14	0	50,0 %
	2	12	0	6	0	50,0 %
	3	33	0	20	0	60,6 %
	4	21	0	6	0	28,4 %
	5	27	0	13	0	48,1 %
	6	20	0	10	0	50,0 %
	7	13	0	6	0	46,2 %
	8	14	0	3	0	21,4 %
Mittelwert ($\bar{X} \pm E$)		21,0 $\pm$ 2,8				44,3 $\pm$ 4,5 %

Tab. 1b. Sternalmarkierverhalten des Versuchstieres Willi unter Testbedingungen mit und ohne Artgenossenduft. Dem Tier wurden in jedem Test gleichzeitig drei Filterblätter auf seiner Markierstange geboten; anschließend wurde die Markierhäufigkeit und die Verteilung der Sternalmarken auf der Markierstange und im restlichen Käfig bestimmt.

Biotest 1 : Beeinflussung der Markieraktivität durch eine saubere Markierstange mit frischen Filterblättern

Tier	Test Nr.	Sternalmarkiervorgänge in 5 Minuten				
		Summe aller Marken	davon auf der Markierstange			Marken auf der Stange in % der Gesamtsumme
			Leerblatt	Leerblatt	Leerblatt	
GUSTAV	1	17	1	0	0	5,9 %
	2	14	0	1	1	14,3 %
	3	13	0	2	1	23,0 %
	4	10	0	0	1	10,0 %
	5	13	0	0	1	7,7 %
	6	8	0	0	0	0 %
	7	9	0	0	0	0 %
	8	12	0	0	0	0 %
	9	11	1	0	0	9,1 %
	10	15	1	1	1	20,0 %
Mittelwert (X ± E)		12,2 ± 0,9				9,0 ± 2,6

Biotest 2 : Beeinflussung der Markieraktivität durch eine saubere Markierstange mit Filterblättern, die Artgenossensekret tragen

Tier	Test Nr.	Sternalmarkiervorgänge in 5 Minuten				
		Summe aller Marken	davon auf der Markierstange			Marken auf der Stange in % der Gesamtsumme
			q-Sekret	δ-Sekret	Leerblatt	
GUSTAV	1	6	0	1	0	17,7 %
	2	15	0	3	0	20,0 %
	3	20	3	6	0	45,0 %
	4	5	0	4	0	80,0 %
	5	8	0	0	0	0 %
	6	13	0	2	0	15,4 %
	7	11	0	2	0	18,2 %
Mittelwert (X ± E)		11,2 ± 2,0				28,0 ± 10,0 %

Tab. 1c. Sternalmarkierverhalten des Versuchstieres Gustav unter Testbedingungen mit und ohne Artgenossenduft. Dem Tier wurden in jedem Test gleichzeitig drei Filterblätter auf seiner Markierstange geboten; anschließend wurde die Markierhäufigkeit und die Verteilung der Sternalmarken auf der Markierstange und im restlichen Käfig bestimmt.

TIER	SEKRETMENGE	KÖRPERGEWICHT
♂ E 1	21,4 $\pm$ 1,7 mg	239,4 $\pm$ 7,5 g
♂ E 52	20,1 $\pm$ 1,4 mg	201,4 $\pm$ 1,3 g
♂ E 39	19,5 $\pm$ 0,9 mg	254,0 $\pm$ 4,0 g
♂ C 36	18,6 $\pm$ 1,1 mg	232,5 $\pm$ 6,1 g
♂ E 21	18,4 $\pm$ 1,5 mg	245,0 $\pm$ 2,5 g
♂ E 25	16,0 $\pm$ 0,7 mg	263,7 $\pm$ 3,2 g
♂ E 11	14,8 $\pm$ 1,1 mg	222,5 $\pm$ 0,5 g
♂ E 9	14,4 $\pm$ 1,1 mg	239,0 $\pm$ 7,0 g
♂ E 17	13,9 $\pm$ 1,7 mg	223,0 $\pm$ 3,0 g
♂ E 44	13,8 $\pm$ 1,3 mg	208,0 $\pm$ 3,8 g
♂ T 35	13,5 $\pm$ 1,1 mg	199,7 $\pm$ 3,7 g
♂ E 19	11,7 $\pm$ 1,4 mg	218,3 $\pm$ 3,9 g
♂ E 16	11,3 $\pm$ 1,0 mg	239,0 $\pm$ 6,0 g
♂ H	11,0 $\pm$ 1,0 mg	207,9 $\pm$ 6,6 g
♂ C 39	9,5 $\pm$ 1,0 mg	210,4 $\pm$ 1,9 g
♂ T 18	9,2 $\pm$ 0,8 mg	198,0 $\pm$ 2,1 g
♂ E 53	8,9 $\pm$ 0,9 mg	151,8 $\pm$ 3,2 g
♂ Fu 2	8,1 $\pm$ 1,2 mg	199,2 $\pm$ 2,6 g
♂ B 65	7,2 $\pm$ 0,8 mg	160,3 $\pm$ 7,3 g
♂ S 2	7,2 $\pm$ 0,5 mg	215,6 $\pm$ 3,4 g
♂ T 29	6,5 $\pm$ 0,8 mg	165,7 $\pm$ 3,9 g
♂ E 15	6,1 $\pm$ 0,6 mg	200,0 $\pm$ 1,2 g
♂ T 27	6,1 $\pm$ 0,5 mg	197,0 $\pm$ 4,4 g
♂ E	5,5 $\pm$ 0,8 mg	198,5 $\pm$ 2,5 g
♂ C	4,7 $\pm$ 0,5 mg	200,1 $\pm$ 6,7 g
♂ E 30	4,6 $\pm$ 0,5 mg	199,5 $\pm$ 2,6 g
♂ E 7	4,1 $\pm$ 1,0 mg	202,9 $\pm$ 2,3 g

Tab. 2. Sternaldrüsensekret (in mg) je Probennahme sowie Körpergewicht fertiler Tupaja-Männchen (Mittelwerte und mittlere Fehler; n = 6).

Tab. 3. Biotests 3 bis 11:

Zur Beurteilung, ob die gebotenen Duftstoffe Sternälmarkieren häufiger stimulieren als die Markierstange mit leeren Filterblättern, wurde bestimmt:

Wie oft markieren die Versuchstiere die Markierstange bzw. den übrigen Käfig mit Sternaldrüsensekret. Die Verteilung der Marken auf Markierstange und Käfig wurde für jedes Tier und jeden Versuch in Prozent umgerechnet. Aus diesen Werten von allen Tieren und allen Tests (mit den gleichen Testsubstanzen-Kombinationen) wurde der Mittelwert gebildet (letzte Spalte) und dieser mit dem Mittelwert von Biotest 1 verglichen.

Zur Entscheidung, welcher Bestandteil des Sternaldrüsensekrets die größte Wirksamkeit besitzt, wurde bestimmt:

Welches der drei Filterblätter auf der Markierstange (mit Teil X des Sekrets, mit Teil Y des Sekrets oder der Blindprobe) wird am häufigsten übermarkiert. Die Verteilung der Marken auf die drei Blätter wurde für jedes Tier und jeden Versuch in Prozent umgerechnet (die Summe aller Marken, die jedes Tier in jedem Versuch setzt = 100%). Aus den Werten von allen Tieren und allen Versuchen (mit gleichen Testsubstanzen) wurde für jedes der drei Filterblätter der Mittelwert bestimmt (mittlere drei Spalten) und diese miteinander verglichen.

Tiere	Prozentuale Verteilung der Sternalmarken im 5-Minuten-Test			
Grimes, Willi, Gustav	Verteilung der Marken auf der Stange			Anteil der Marken auf der Stange an der Gesamtzahl aller Marken
	♂-Sekret	♂-Sekret	Kontrollblatt	
	79,9 _{+3,2} %	15,2 _{+ 2,7} %	4,9 _{+ 1,6} %	55,3 _{+ 4,1} %

Tab. 3a. Biotest 3:

Wirksamkeitskontrolle des Sekrets fertiler und kastrierter Männchen. Die Werte sind Mittelwerte mit ihren mittleren Fehlern (n=21). Die Versuchstiere setzen hier einen signifikant größeren Prozentsatz ($p < 0,001$) ihrer Sternalmarken auf die Markierstange als im Biotest 1. Sekret von fertilen Männchen wird signifikant häufiger übermarkiert als die beiden anderen Proben ($p < 0,001$). Der Unterschied zwischen dem Sekret kastrierter Männchen und der Kontrolle ist auch signifikant ($p < 0,01$).

Tiere	Prozentuale Verteilung der Sternalmarken im 5-Minuten-Test			
Grimes, Willi, Gustav	Verteilung der Marken auf der Stange			Anteil der Marken auf der Stange an der Gesamtzahl aller Marken
	Lipid-Fr.	Wasser-Fr.	Kontrollblatt	
	86,3 _{+4,9} %	13,1 _{+4,9} %	0,6 _{+ 0,5} %	76,7 _{+ 5,0} %

Tab. 3b. Biotest 4:

Wirksamkeitskontrolle der Fraktionen des Rohsekrets. Die Werte sind Mittelwerte mit ihren mittleren Fehlern (n=9). Die Versuchstiere setzen hier einen signifikant größeren Prozentsatz ($p < 0,001$) ihrer Sternalmarken auf die Markierstange als im Biotest 1. Die Lipidfraktion wird signifikant häufiger übermarkiert als die beiden anderen Proben ($p < 0,001$). Auch der Unterschied zwischen Wasser-Fraktion und dem Kontrollblatt ist noch signifikant ($p < 0,05$).

Tiere	Prozentuale Verteilung der Sternalmarken im 5-Minuten-Test			
Grimes, Willi, Gustav	Verteilung der Marken auf der Stange			Anteil der Marken auf der Stange an der Ge- samtzahl aller Marken
	1./2.-Fr.	3./4./5.-Fr.	Kontrollblatt	
	24,5 $\pm$ 4,1%	71,3 $\pm$ 4,8%	4,2 $\pm$ 1,9 %	73,7 $\pm$ 6,1 %

Tab. 3c. Biotest 5 :

Wirksamkeitskontrolle der Produkte der Trockensäulenfraktionierung; dazu wurden die Fraktionen (Fr.) 1 und 2, sowie die Fraktionen 3 bis 5 in zwei Gruppen zusammengefaßt. Die Werte sind Mittelwerte mit ihren mittleren Fehlern (n=9). Die Versuchstiere setzen hier einen signifikant größeren Prozentsatz ($p < 0,001$) ihrer Sternalmarken auf die Markierstange als im Biotest 1. Die Gemische der Fraktionen 1 und 2, sowie der Fraktionen 3, 4 und 5 werden signifikant häufiger übermarkiert als die Kontrolle ($p < 0,001$). Das 3-Fraktionen-Gemisch wird zudem häufiger übermarkiert als das 2-Fraktionen-Gemisch ($p < 0,001$).

Tiere	Prozentuale Verteilung der Sternalmarken im 5-Minuten-Test			
Grimes, Willi, Gustav	Verteilung der Marken auf der Stange			Anteil der Marken auf der Stange an der Ge- samtzahl aller Marken
	3.Fraktion	4.Fraktion	5.Fraktion	
	45,3 $\pm$ 6,4%	33,2 $\pm$ 6,5%	21,5 $\pm$ 9,5%	62,6 $\pm$ 6,0 %

Tab. 3d. Biotest 6 :

Wirksamkeitskontrolle der Produkte der Trockensäulenfraktionierung. Die Werte sind Mittelwerte mit ihren mittleren Fehlern (n=15). Die Versuchstiere setzen hier einen signifikant größeren Prozentsatz ($p < 0,001$) ihrer Sternalmarken auf die Markierstange als im Biotest 1. Die dritte Fraktion wird häufiger übermarkiert als die 5. Fraktion ($p < 0,05$). Die Unterschiede zwischen der 3. und 4. Fraktion, sowie zwischen der 4. und 5. Fraktion sind nicht signifikant.

Tiere	Prozentuale Verteilung der Sternalmarken im 5-Minuten-Test			
Grimes, Willi, Gustav	Verteilung der Marken auf der Stange			Anteil der Marken auf der Stange an der Ge- samtzahl aller Marken
	Gemisch A	Gemisch B	Kontrollblatt	
	85,3 $\pm$ 7,6%	13,0 $\pm$ 7,1%	1,7 $\pm$ 7,1 %	71,9 $\pm$ 8,3 %

Tab. 3e. Biotest 8 :

Wirksamkeitskontrolle der Duftstoffe nach der Kohlendioxydestillation. Gemisch A besteht aus Destillat und Destillationsrückstand, Gemisch B besteht aus n-Pentan und Destillationsrückstand. Die Werte sind Mittelwerte mit ihren mittleren Fehlern (n=9). Die Versuchstiere setzen hier einen signifikant größeren Prozentsatz ($p < 0,001$) ihrer Sternalmarken auf die Markierstange als im Biotest 1. Gemisch A wird signifikant häufiger übermarkiert als die beiden anderen Proben ($p < 0,001$). Der Unterschied zwischen Gemisch B und der Kontrolle ist nicht signifikant.

Tiere Prozentuale Verteilung der Sternalmarken im 5-Minuten-Test				
Grimes, Willi, Gustav	Verteilung der Marken auf der Stange			Anteil der Marken auf der Stange an der Ge- samtzahl aller Marken
	1.Fraktion	4.Fraktion	Kontrollblatt	
	82,0 $\pm$ 5,0%	11,0 $\pm$ 3,3%	7,0 $\pm$ 2,5 %	66,4 $\pm$ 7,1 %

Tab. 3f. Biotest 9 :

Wirksamkeitskontrolle nach der gaschromatographischen Fraktionierung. Den Fraktionen wurde zum Test wieder Destillationsrückstand zugemischt. Die Werte sind Mittelwerte mit ihren mittleren Fehlern (n=9). Die Versuchstiere setzen hier einen signifikant größeren Prozentsatz ($p < 0,001$) ihrer Sternalmarken auf die Markierstange als im Biotest 1. Fraktion 1 wird signifikant häufiger übermarkiert als die beiden anderen Proben ($p < 0,001$). Der Unterschied zwischen der 4. Fraktion und der Kontrolle ist nicht signifikant.

Tiere Prozentuale Verteilung der Sternalmarken im 5-Minuten-Test				
Grimes, Willi, Gustav	Verteilung der Marken auf der Stange			Anteil der Marken auf der Stange an der Ge- samtzahl aller Marken
	2.Fraktion	3.Fraktion	Kontrollblatt	
	68,4 $\pm$ 7,7%	21,8 $\pm$ 5,7%	9,8 $\pm$ 4,3 %	52,7 $\pm$ 10,1 %

Tab. 3g. Biotest 10:

Wirksamkeitskontrolle nach der gaschromatographischen Fraktionierung. Den Fraktionen wurde zum Test wieder Destillationsrückstand zugemischt. Die Werte sind Mittelwerte mit ihren mittleren Fehlern (n=9). Die Versuchstiere setzen hier einen signifikant größeren Prozentsatz ($p < 0,001$) ihrer Sternalmarken auf die Markierstange als im Biotest 1. Fraktion 2 wird signifikant häufiger übermarkiert als die beiden anderen Proben ($p < 0,001$). Der Unterschied zwischen der 3. Fraktion und der Kontrolle ist nicht signifikant.

Tiere	Prozentuale Verteilung der Sternalmarken im 5-Minuten-Test			
Bucz, Willi, Rata- tösker	Verteilung der Marken auf der Stange			Anteil der Marken auf der Stange an der Ge- samtzahl aller Marken
	Gemisch C	Gemisch D	Kontrollblatt	
	39,3 $\pm$ 9,0%	43,6 $\pm$ 4,5%	17,1 $\pm$ 6,5 %	35,3 $\pm$ 7,8 %

Tab. 3h. Biotest 11 :

Wirksamkeitskontrolle des synthetischen Duftgemisches. Gemisch C besteht aus verschiedenen identifizierten Phenylverbindungen und Destillationsrückstand, Gemisch D setzt sich aus Destillationsrückstand und n-Pentan zusammen. Die Werte sind Mittelwerte mit ihren mittleren Fehlern (n=9). Die Versuchstiere setzen hier einen signifikant größeren Prozentsatz ($p < 0,001$) ihrer Sternalmarken auf die Markierstange als im Biotest 1. Beide Gemische werden signifikant häufiger übermarkiert als die Kontrolle ($p < 0,001$). Der Unterschied zwischen Gemisch C und Gemisch D ist nicht signifikant.

E. ZUSAMMENFASSUNG

1. Männliche *Tupaia belangeri* sternalmarkieren ihren Wohnkäfig ohne erkennbaren Anlaß regelmäßig und mit individueller Intensität. Dabei ist die zeitliche Verteilung (Abb. 5) und die räumliche Verteilung (Abb. 6) der Sternalmarken, sowie die Anzahl der Sternalmarken pro Tag relativ konstant. Solches Sternalmarkieren ohne zusätzlichen Stimulus wurde als basales Markieren definiert.

2. Sternaldrüsensekret männlicher Artgenossen - als fremde Duftmarke in den Wohnkäfig gebracht - wird gezielt und unverzüglich übermarkiert. D. h. der Käfigbewohner markiert mit seinem Sternaldrüsensekret häufiger als zuvor die Stelle, von der das fremde Duftsignal ausgeht. Damit muß er aber nicht zwangsläufig seine Tagesmarkieraktivität erhöhen; meist werden zum Übermarkieren die eigenen Duftmarken nur umverteilt (Abb. 7).

3. Übermarkieren ist eine spezifische Reaktion auf olfaktorische Signale aus dem Sternaldrüsensekret männlicher Tupajas. Es kann daher im Biotest als Indiz für die Wirksamkeit einzelner Komponenten des Sekrets herangezogen werden.

4. Die Sternaldrüsensekretion von Tupaja-Männchen ist androgenabhängig und von Tier zu Tier unterschiedlich (Tab. 2). Im Mittel produzieren die Männchen 11 ± 1 mg Sekret pro Sekretabnahme. Nach Kastration nimmt die Sekretmenge auf weniger als

2 mg pro Tier und Probe ab; nach Hormonbehandlung der Kastraten kann die ursprüngliche Sekretmenge wiedergewonnen werden.

5. Sternaldrüsensekret von Tupajas ist ein gelblich-weißes, komplexes Lipidgemisch. Seine Hauptkomponenten sind Kohlenwasserstoffe, Sterole, Sterolester, sowie Ester langkettiger Fettsäuren und Alkohole (Abb. 9).

6. Der charakteristische Geruch des Sternaldrüsensekrets wird durch Spuren leichtflüchtiger Bestandteile verursacht (Abb. 11). Diese Bestandteile sind für das Übermarkieren verantwortlich; ihr Anteil an der Gesamtmenge des Sternaldrüsensekrets ist geringer als 10^{-5} .

7. Von diesen Duftstoffen konnten bislang mit kombinierter Gas-Massenspektrometrie verschiedene Phenylverbindungen identifiziert werden (Abb. 13). Sie sind neben anderen, noch nicht identifizierten flüchtigen Verbindungen an der Auslösung des Übermarkierens beteiligt. Ihre Entstehung wird diskutiert.

F. LITERATUR

- Albone, E. S., Eglington, G.: The anal sac secretion of the red fox (*Vulpes vulpes*); Its chemistry and microbiology. A comparison with the anal sac secretion of the lion (*Panthera leo*). *Life Sciences* 14, 387 - 400 (1974)
- Albone, E. S., Perry, G. C.: Anal sac secretion of the red fox, *Vulpes vulpes*; volatile fatty acids and diamines: Implications for a fermentation hypothesis of chemical recognition. *J. Chem. Ecol.* 2, 101 - 111 (1975)
- Balakrishnan, M., Alexander, K. M.: Hormonal control of scent marking in the indian musk shrew, *Suncus murinus viridescens* (Blyth). *Hormones and Behavior* 7, 431 - 439 (1976)
- Baumann, E.: Über die Bildung von Hydroparacumarsäure aus Tyrosin. *Ber. dtsh. chem. Ges.* 12, 1450 - 1454 (1879)
- Bergert, K. H., Betz, V., Pruggmayer, D.: Untersuchung flüchtiger organischer Mikroverunreinigungen in Luft und Wasser mit Hilfe von Tieftemperatur-Kapillar-GC/Massenspektrometrie. *Chromatographia* 7, 115 - 121 (1974)
- Bertsch, W., Chang, R. C., Zlatkis, A.: The determination of organic volatiles in air pollution studies: characterization of profiles. *J. Chromatogr. Sci.* 12, 175 - 182 (1974)
- Binder, H.: Zur gaschromatographischen Untersuchung von Dampfphasen. Die spezielle Probenahme bei Zigarettenrauchanalysen. *J. Chromatogr.* 82, 402 - 406 (1973)
- Black-Cleworth, P., Verberne, G.: Scent marking, dominance and flehmen behavior in domestic rabbits in an artificial laboratory territory. *Chemical Senses and Flavor* 1, 465 - 494 (1975)
- Browne, L. E., Birch, M. C., Wood, D. L.: Novel trapping and delivery systems for airborne insect pheromones. *J. Insect Physiol* 20, 183 - 193 (1974)

- Brownlee, R. G., Silverstein, R. M., Müller-Schwarze, D., Singer, A. G.: Isolation, identification and function of the chief component of the male tarsal scent in black-tailed deer. *Nature* 221, 284 - 285 (1969)
- Burger, V. B., Le Roux, M., Gabers, C. F., Spies, H. S. C., Bigalke, R. G., Pachler, K. G. R., Wessels, P. L., Christ, V., Maurer, K. H.: Studies on mammalian pheromones, I. Ketones from the pedal gland of the bontebok (*Damaliscus dorcas dorcas*). *Z. Naturforsch.* 31 c, 21 - 28 (1976)
- Burger, V. B., Le Roux, M., Gabers, C. F., Spies, H. S. C., Bigalke, R. G., Pachler, K. G. R., Wessels, P. L., Christ, V., Maurer, K. H.: Studies on mammalian pheromones II. Further compounds from the pedal gland of the bontebok (*Damaliscus dorcas dorcas*). *Z. Naturforsch.* 32 c, 49 - 56 (1977)
- Burchfield, H. P., Storrs, E. E.: Biochemical applications of gas chromatography, Chapter 3: Volatile components of tissues and biological fluids, p. 244 - 329. New York and London: Academic Press 1962
- Burson, K. R., Kenner, Ch. T.: A simple trap for collecting gas chromatographic fractions for mass spectrometer analysis. *J. Chromatogr. Sci.* 7, 63 - 64 (1969)
- Byrne, K. J., Gore, W. E., Pearce, G. T., Silverstein, R. M.: Propak-Q collection of airborne organic compounds serving as models for insect pheromones. *J. Chem. Ecol.* 1, 1 - 7 (1975)
- Collins, R. P.: Terpenes and odoriferous materials from micro-organisms. *Lloydia* 39, 20 - 24 (1976)
- Cooper, M. F., Thody, A. J., Shuster, S.: Hormonal regulation of cutaneous lipogenesis: Effects of hypophysectomy, posterior hypophysectomy and α -melanocyte-stimulating hormone treatment. *Biochim. Biophys. Acta* 360, 193 - 204 (1974)
- Cornu, A., Massot, R. (eds.): Compilation of mass spectral data. London: Hyden & Sons Ltd. 1966

- Curtis, R. F., Ballantine, J. A., Keverne, E. B., Bonsall R. W., Michael, R. P.: Identification of primate sexual pheromones and the properties of synthetic attractants. *Nature* 232, 396 - 398 (1971)
- Dagg, A. I., Windsor, D. E.: Olfactory discrimination limits in gerbils. *Can. J. Zool.* 49, 283 - 285 (1971)
- Do, J. C., Kitatsuji, E., Yoshu, E.: Study on the components of Musk. I. Ether soluble components. *Chem. Pharm. Bull.* 23, 629 - 635 (1975)
- Ebling, F. J., Ebling, E., Skinner, J.: The effects of thyrotrophic hormone and of thyroxine on the response of the sebaceous glands of the rat to testosterone. *J. Endocr.* 48, 83 - 90 (1970)
- Ellin, R. I., Farrand, R. L., Oberst, F. W., Crouse, C. L., Billups, N. B., Koon, W. S., Musselman, N. P., Sidell, F. S.: An apparatus for the detection and quantitation of volatile human effluents. *J. Chromatogr.* 100, 137 - 152 (1974)
- Fillies, K.: Über die chemische Zusammensetzung des Analbeutelsekrets von *Petaurus breviceps papuanus* Th. (Marsupialia, Phalangeridae). Dissertation, München 1968
- Goodrich, B. S., Mykytowycz, R.: Individual and sex differences in the chemical composition of pheromone-like substances from the skin glands of the rabbit, *Oryctolagus cuniculus*. *J. Mammal.* 53, 540 - 548 (1972)
- Gorman, M. L., Nedwell, D. B., Smith, R. M.: An analysis of the contents of the anal scent pockets of *Herpestes auropunctatus* (Carnivora: Viverridae). *J. Zool.* 172, 389 - 399 (1974)
- Gorman, M. L.: A mechanism for individual recognition by odour in *Herpestes auropunctatus* (Carnivora: Viverridae). *Anim. Behav.* 24, 141 - 145 (1976)
- Gray, G. M., Yardley, H. J.: Lipid composition of cells isolated from pig, human and rat epidermis. *J. Lipid Res.* 16, 434 - 440 (1975)

- Grob, K., Grob, G.: Gas-liquid chromatographic-mass spectrometric investigation of C_6-C_{20} organic compounds in an urban atmosphere: An application of ultra trace analysis on capillary columns. J. Chromatogr. 62, 1 - 13 (1971)
- Grob, K., Zürcher, F.: Stripping of trace organic substances from water. Equipment and procedure. J. Chromatogr. 117, 285 - 294 (1976)
- Harmsen, R., Sittig, N.: The effect of testosterone on the development of the perianal glands of the guinea pig *Cavia porcellus* (L.). J. Exp. Zool. 186, 269 - 272 (1973)
- Harper, R.: Some chemicals representing particular odour qualities. Chemical Senses and Flavor 1, 353 - 357 (1975)
- Hart, B. L.: Environmental and hormonal influences on urine marking behavior in the adult male dog. Behav. Biol. 11, 167 - 176 (1974)
- Hodgins, M. B., Hay, J. B.: Androgen metabolism in the ventral sebaceous gland patch of the mongolian gerbil. J. Endocr. 59, 487 - 493 (1973)
- Höltzel, C.: Apparat zur Gewinnung und Bestimmung kleiner Mengen von ätherischen Ölen für wissenschaftliche und praktische Zwecke. Deutsch. Apoth. Ztg. 38, 1207 - 1208 (1963)
- v. Holst, D., Buergel-Goodwin, U.: The influence of sex hormones on chinning by the male *Tupaia belangeri*. J. comp. Physiol. 103, 123 - 151 (1975)
- v. Holst, D., Buergel-Goodwin, U.: Chinning by male *Tupaia belangeri*: The effects of scent marks of conspecifics and of other species. J. comp. Physiol. 103, 153 - 171 (1975)
- v. Holst, D., Lesk, S.: Über den Informationsinhalt des Ster-naldrüsensekrets männlicher und weiblicher *Tupaia belangeri*. J. comp. Physiol. 103, 173 - 188 (1975)
- Honkanen, E., Karvonen, P.: A gas chromatographic method for the determination of volatile flavours from foodstuffs. Acta Chem. Scand. 17, 1357 - 1362 (1963)

- Honkanen, E., Karvonen, P.: Isolation of volatile flavour compounds from fats and oils by vacuum carbon dioxide distillation. *Acta Chem. Scand.* 20, 2626 - 2627 (1966)
- Jacobson, M., Beroza, M., Jones, W. A.: Isolation, identification, and synthesis of the sex attractant of gypsy moth. *Science* 132, 1011 (1960)
- Johnson, R. P.: Scent marking in mammals. *Anim. Behav.* 21, 521 - 535 (1973)
- Johnson, R. P.: Scent marking with urine in two races of the bank vole (*Clethrionomys glareolus*). *Behaviour* 55, 81 - 93 (1975)
- Johnston, R. E.: Scent marking by male golden hamsters (*Mesocricetus auratus*): II. The role of the flank gland scent in the causation of marking. *Z. Tierpsychol.* 37, 138 - 144 (1975)
- Kaiser, R.: Ultra trace analysis of volatile substances with GC methods in the sub ppm and ppb range down to 10^{-10} %. *J. Chromatogr. Sci.* 9, 227 - 235 (1971)
- Kaiser, R. E.: Gas chromatography in environmental analysis. *J. Chromatogr. Sci.* 12, 36 - 39 (1974)
- Karlson, P., Schneider, D.: Sexualhormone der Schmetterlinge als Modelle chemischer Kommunikation. *Naturwissenschaften* 60, 113 - 121 (1973)
- Karunakaran, M. E., Pochi, P. E., Strauss, J. S., Valerio, E. A., Wotiz, H. H., Clark, S. J.: Androgens in skin surface lipids. *J. Invest. Dermatol.* 60, 121 - 125 (1973)
- Keith, L., Stromberg, P., Krotoszynski, B. K., Shah, J., Dravnieks, A.: The odors of human vagina, *Arch. Gynäkol.* 220, 1 - 10 (1975)
- Lederer, E.: Odeurs et parfums des animaux. *Fortschr. d. Chem. Org. Naturstoffe* 6, 87 - 153 (1950)
- Leon, M., Moltz, H.: The development of the pheromonal bond in the albino rat. *Physiol. Behav.* 8, 683 - 686 (1972)

- Loev, B., Goodman, M. M.: Dry-column chromatography: a preparative chromatographic technique with the resolution of thin-layer chromatography. *Chem. Ind.* 17, 2026 - 2032 (1967)
- Logani, M. K., Austin, W. A., Nhari, D. B., Davies, R. E.: Neutral lipids from the skin of the Rhino mutant mouse. *Biochem. Biophys. Acta* 380, 155 - 164 (1975)
- Lydell, K., Doty, R. L.: Male rat odor preferences for female urine as a function of sexual experience, urin age, and urin source. *Horm. Behav.* 3, 205 - 212 (1972)
- Markey, S. P., Urban, W. G., Levine, S. P.: Mass spectra compounds of biological interest, Vol. II, Part 1 + 2, Springfield: National Technical Information Service US Department of Commerce 1974
- Martin, R. D.: Reproduction and ontogeny in tree-shrews (*Tupaia belangeri*), with reference to their general behaviour and taxonomic relationship. *Z. Tierpsychol.* 25, 409 - 495 und 505 - 532 (1968)
- Matsumoto, K. E., Partridge, D. H., Robinson, A. B., Pauling, L., Flath, R. A., Mon., T. R., Teranishi, R.: The identification of volatile compounds in human urine. *J. Chromatogr.* 85, 31 - 34 (1973)
- Meese, G. B., Conner, D. J., Baldwin, B. A.: Ability of the pig to distinguish between conspecific urine samples using olfaction. *Physiol. Behav.* 15, 121 - 125 (1975)
- Michael, R. P., Bonsall, R. W., Warner, P.: Human vaginal secretions: volatile fatty acid content. *Science* 186, 1217 - 1219 (1974)
- Müller-Schwarze, D., Müller-Schwarze, C., Singer A. G., Silverstein, R. M.: Identification of active component in the subauricular scent of the male Pronghorn. *Science* 183, 860 - 862 (1974)
- Mykutowycz, R.: The behavioural role of the mammalian skin glands. *Naturwissenschaften* 59, 4, 133 - 139 (1972)

- Mykutowycz, R., Hesterman, E. R., Gambale, S., Dudziński, M.
L.: A comparison of the effectiveness of the odors of
rabbits, *Oryctolagus cuniculus*, in enhancing territorial
confidence. J. Chem. Ecol. 2, 13 - 24 (1976)
- Nicolaides, N.: Skin lipids: their biochemical uniqueness.
Science 186, 19 - 26 (1974)
- Nicolaides, N., Fu, H. C., Ansari, M. N. A.: Diester waxes in
surface lipids of animal skin. Lipids 5, 299 - 307 (1970)
- Palo, V.: Beitrag zur Identifizierung leichtflüchtiger Stoffe
aus Milchprodukten durch Gas-Chromatographie nach der head-
space Technik. Chromatographia 4, 55 - 58 (1971)
- Patterson, R. L. S.: Acidic components of boar preputial fluid.
J. Sci. Fd. Agric. 19, 38 - 40 (1968)
- Patterson, R. L. S.: A possible contribution of phenolic
components to boar odour. J. Sci. Fd. Agric. 18, 8 - 10
(1976)
- Peters, R. P., Mech, L. D.: Scent-marking in wolves. Amer.
Sci. 63, 628 - 637 (1975)
- Prelog, V., Ruzicka, L.: Untersuchungen über Organextrakte.
(5. Mitt.). Über zwei moschusartig riechende Steroide aus
Schweinetestes-Extrakten. Helv. Chim. Acta 27, 61 - 66 (1944)
- Ralls, K.: Mammalian scent marking. Science 171, 3970, 443 -
449 (1971)
- Rasa, O. A. E.: Marking behaviour and its social significance
in the african dwarf mongoose, *Helogale undulata rufula*.
Z. Tierpsychol. 32, 293 - 318 (1973)
- Robinson, A. B., Partridge, D., Turner, M., Teranishi, R.,
Pauling, L.: An apparatus for the quantitative analysis
of volatile compounds in urine. J. Chromatogr. 85, 19 - 29
(1973)
- Rothe, M., Specht, M.: Bemerkungen zur Molmasse von Aromastof-
fen. Nahrung 20, 281 - 286 (1976)

- Sansone, G., Hamilton, J. G.: Glyceryl ether, wax ester and triglyceride composition of the mouse preputial gland. *Lipids* 4, 435 - 440 (1969)
- Sansone-Bazzano, G., Bazzano G., Reisner, R. M., Hamilton, J. G.: The hormonal induction of alkyl glycerol, wax and alkyl acetate synthesis in the preputial gland of the mouse. *Biochim. Biophys. Acta* 260, 35 - 40 (1972)
- Schaffer, J.: *Die Hautdrüsenorgane der Säugetiere*. Berlin: Urban und Schwarzenberg 1940
- Sebeok, T. A.: *Animal communication*. Bloomington-London: Indiana University Press 1973
- Signoret, J. P., du Mesnil du Buisson, F.: In: *Proc. 4th Internat. Congr. Animal Reprod.* 2, 171 - 175 (1961)
- Smith, A. B., Yarger, R. G., Epple, G.: The major volatile constituents of the marmoset (*Sanguinus fuscicollis*) scent mark. *Tetrahedron Letters* 13, 983 - 986 (1976)
- Smith, K., Thompson, G. F., Koster, H. D.: Sweat in schizophrenic patients: Identification of the odorous substance. *Science* 166, 398 - 399 (1969)
- Spinner, E.: Gas chromatographic technique developed to objectively evaluate paperboard odors. *J. Chromatogr. Sci.* 13, 181 - 184 (1975)
- Sprankel, H.: Histologie und biologische Bedeutung eines jugulosternalen Duftdrüsenfeldes bei *Tupaia glis*, DIARD 1820. *V. d. D. Z. G. i. S.* 55, 198 - 206 (1961 b)
- Stafford, M., Horning, M. G., Zlatkis, A.: Profiles of volatile metabolites in body fluids. *J. Chromatogr.* 126, 495 - 502 (1976)
- Stenhagen, E. A., Abrahamson, S., Mc Lafferty, F. W. (eds.): *Registry of mass spectral data*. New York: Wiley-Interscience 1974
- v. Stralendorff, F.: *Das Sternaldrüsensekret männlicher Tupaia belangeri*. Untersuchungen zu seinem olfaktorischen Informationsgehalt und dessen stofflichem Äquivalent. Diplomarbeit, München 1972

- Strauss, J. S., Pochi, P. E., Downing, D. T.: The sebaceous glands: twenty-five years of progress. J. Invest. Dermatol. 67, 90 - 97 (1976)
- Thiessen, D. D., Friend, H. C., Lindzey, G.: Androgen control of territorial marking in the mongolian gerbil. Science 160, 432 - 434 (1968)
- Thiessen, D. D., Regnier, F. E., Rice, M., Goodwin, M., Isaacks, N., Lawson, N.: Identification of a ventral scent marking pheromone in the male mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). Science 184, 83 - 85 (1974)
- Thiessen, D., Rice, M.: Mammalian scent gland marking and social behavior. Psychol. Bull. 83, 505 - 539 (1976)
- Thody, A. J. Shuster, S.: The pituitary and sebaceous gland activity. J. Endocr. 48, 139 - 140 (1970)
- Wheeler, J. W., v. Endt, D. W., Wemmer, C.: 5-Thiomethylpentane-2,3-dione. A unique natural product from the striped hyena. J. Amer. Chem. Soc. 97, 441 - 442 (1975)
- Wilson, E. O., Bossert, W. H.: Chemical communication among animals. Rec. Progr. 19, 673 - 716 (1963)
- Wong, E., Johnson, C. B., Nixon, L. N.: Mutton odour. Chem. Ind. 47, 40 (1975)
- Zlatkis, A., Lichtenstein, H. A., Tishbee, A., Bertsch, W., Shunbo, F., Liebich, H. M.: Concentration and analysis of volatile urinary metabolites. J. Chromatogr. Sci. 11, 299 - 302 (1973)

Lebenslauf

Am 25. Dezember 1943 wurde ich als fünftes Kind des Minoratsherrn auf Golchen Heinrich v. Stralendorff und seiner Ehefrau Irmela v. Stralendorff, geb. v. Langen, in Breslau geboren. Im April 1944 wurde ich in Golchen evangelisch-lutherisch getauft.

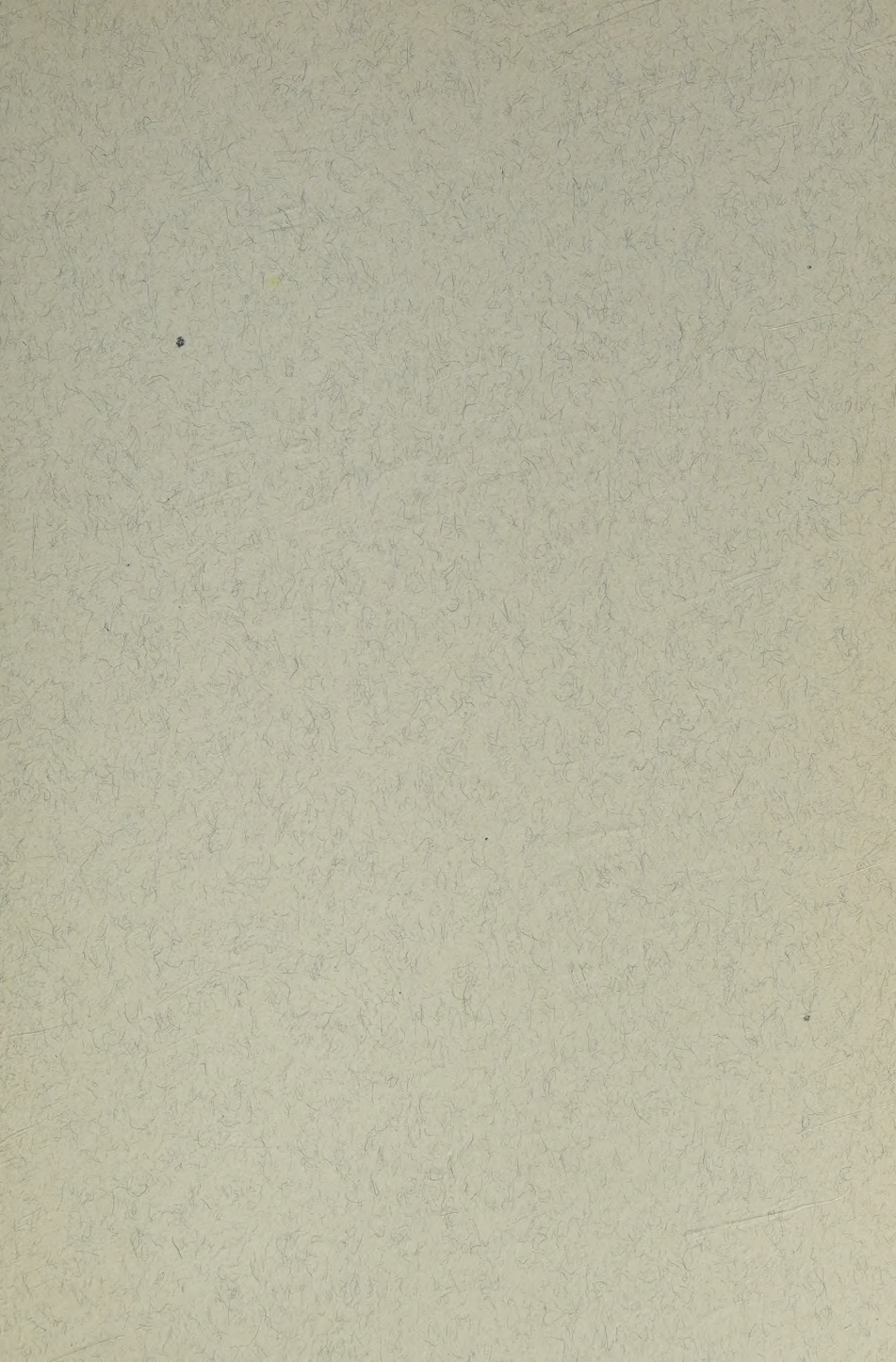
Nach der Vertreibung aus unserer Heimat und dem Tode meines Vaters zogen wir nach Schönau bei Berchtesgaden, wo ich 1949 eingeschult wurde; 1964 legte ich an der Karls-Oberrealschule in Bad Reichenhall die Reifeprüfung ab.

Anschließend diente ich zwei Jahre bei der Bundeswehr und wurde als Leutnant der Reserve entlassen.

Mit dem Biologiestudium begann ich im Wintersemester 1966/67 an der Universität Heidelberg und setzte es im Sommersemester 1968 an der Universität München fort. Dort legte ich 1972 die Diplomprüfung für Biologen ab.

Im gleichen Jahr begann ich die vorliegende Dissertation. Seit 1975 arbeite ich als Verwalter der Dienstgeschäfte eines wissenschaftlichen Assistenten am Lehrstuhl für Tierphysiologie der Universität Bayreuth.

Ich bin seit 1974 verheiratet und habe eine Tochter, die 1976 geboren wurde.



**Dissertationsdruck
GmbH & Co. KG**

M. SCHADEL

86 Bamberg · Hohe-Kreuz-Str.9b · Tel. 0951/5 44 14